



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

INVESTIGAÇÃO DAS CAUSAS DE ABORTO EQÜINO

NEI MOREIRA

Tese apresentada à Universidade Federal do
Paraná, para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Veterinárias.

CURITIBA

1992

35
3849d
2.ed.
JU-05

Gasparini, Diogenes, 1935-
Direito administrativo / Diogenes
Gasparini. - 2.ed. rev. e aum. - São
Paulo : Saraiva, 1992.

635 p.

Inclui índice sistematizado e índice
alfabetico-remissivo.

1. Direito administrativo - Brasil.
2. Administração pública. 3. Atos
administrativos. 4. Poder de polícia.
5. Desapropriação. 6. Serviço público.

CDD-341.3

FGV-PC000000659

NEI MOREIRA

**INVESTIGAÇÃO DAS CAUSAS
DE ABORTO EQUINO**

Dissertação aprovada como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre no Curso de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela
Comissão formada pelos professores:

Orientador: Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss
Setor de Ciências Agrárias, UFPR

Prof. Dr. Luiz Ernandes Kozicki
Setor de Ciências Agrárias, UFPR

Prof. Dr. Ivan Deconto
Setor de Ciências Agrárias, UFPR

Curitiba, 9 de outubro de 1992

*Este trabalho é dedicado a meus
pais, pelo constante amor e apoio.*

AGRADECIMENTOS

1. Ao Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss por sua valiosa orientação.
2. Ao Dr. Ernesto Renato Krügger, do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, pelo assessoramento na área de Virologia.
3. Ao Prof. Dr. Metry Bacila, Coordenador do Curso de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias, pelo exemplo de amor à ciência.
4. Ao Prof. José Francisco G. Warth, Dra. Sônia Maria Biessdorf e Dra. Mariela M. M. Goularte, do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, pelo assessoramento e trabalho realizado na área de Bacteriologia.
5. À Dra. Maria Luíza Leonardi Gonçalves, do Centro de Diagnósticos Marcos Enrietti, pelo assessoramento e trabalho realizado na área de Leptospirose.
6. Aos demais funcionários do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, em especial ao Sr. Antônio Carlos Borges.
7. Aos Professores João Maria Ferraz Diniz e Pedro Ribas Werner, do Curso de Medicina Veterinária da UFPR, pelo assessoramento na área de Histologia.
8. À Sra. Irene Kozak e ao Sr. Herivelto Benedito Zeferino, pelo auxílio no processamento histológico das amostras.
9. Aos veterinários e pessoas responsáveis por haras na região de Curitiba, pela colaboração no fornecimento do material biológico utilizado nesta pesquisa.
10. Ao Instituto Biológico de São Paulo, sob direção da Dra. Ivanete Kotait, pela colaboração no estudo virológico dos casos de aborto.
11. À Seção de Raiva e Encefalomyelite do Instituto Biológico de São Paulo, representada pelas seguintes pessoas: Dra. Zélia M. P. Peixoto, Dra. Elenice M. S. Cunha, Dra. Cleide Aschenbrenner Consalez, Dra. Luzia Helena Queiroz e demais funcionários, pelo processamento virológico dos casos de aborto.

12. Ao CNPq, através da Coordenadoria de Zootecnia e Veterinária, órgão financiador do auxílio para esta pesquisa.
13. À Universidade Federal do Paraná, por ter propiciado condições para a realização deste trabalho.
14. À Sra. Tânia Mara Schrank, secretária do Curso de Pós- Graduação, pela atenção e simpatia ao longo do curso.
15. A todos os amigos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

CONTEÚDO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Generalidades.....	3
2.2. Causas não infecciosas de aborto.....	6
2.2.1. Gestação gemelar.....	6
2.2.2. Malformações congênitas.....	6
2.2.3. Síndrome da diarreia fetal.....	7
2.2.4. Anormalidades do cordão umbilical.....	7
2.2.5. Prenhez de corpo uterino.....	7
2.2.6. Insuficiência placentária.....	7
2.2.7. Separação placentária prematura.....	8
2.2.8. Asfixia perinatal.....	8
2.2.9. Fator nutricional e/ou tóxico.....	8
2.2.10. Disfunção endócrina.....	8
2.2.11. Anormalidades cromossômicas.....	9
2.3. Causas infecciosas de aborto.....	9
2.3.1. Causas virais.....	9
Herpesvírus eqüino tipo 1.....	9
Arterite viral eqüina.....	13
2.3.2. Causas bacterianas.....	14
2.3.3. Causas fúngicas.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Coleta de material.....	17

3.2. Amostras de soro sanguíneo	17
3.3. Métodos analíticos	19
3.3.1. Sorologia para leptospirose	19
3.3.2. Sorologia para o Herpesvírus eqüino tipo 1.....	21
3.3.3. Processamento bacteriológico.....	22
3.3.4. Processamento virológico	23
3.3.5. Método histológico	25
3.4. Solução	25
3.5. Meio para cultivo celular.....	26
 4. RESULTADOS.....	 27
4.1. Sorologia para leptospirose	27
4.2. Sorologia para o Herpesvírus eqüino tipo 1	28
4.2.1. Avaliação geral dos resultados	28
4.2.2. Análise dos resultados segundo o sexo	29
4.2.3. Análise dos resultados segundo a raça	30
4.2.4. Análise dos resultados segundo a faixa etária	33
4.2.5. Análise dos resultados segundo a procedência	35
4.3. Índice de abortos	37
4.4. Incidência de abortos por propriedade.....	38
4.5. Idade média das éguas que abortaram.....	38
4.6. Abortos gemelares.....	38
4.7. Isolamento do Herpesvírus eqüino tipo 1	39
4.8. Bactérias isoladas dos fetos abortados.....	39
4.9. Incidência mensal dos casos de aborto	40
4.10. Incidência dos casos de aborto segundo o período de gestação	41
4.11. Exame histológico.....	42
 5. DISCUSSÃO	 44
 6. SUMÁRIO.....	 49
 7. ABSTRACT	 50

8. CONCLUSÕES.....	51
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Etiologia, incidência com relação à idade gestacional e epidemiologia.....	4
TABELA 2.	Achados patológicos diferenciais	5
TABELA 3.	Sorovares de referência utilizados na prova de aglutinação	20
TABELA 4.	Resultados da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo o sexo.....	29
TABELA 5.	Frequência da distribuição de títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo o sexo.....	29
TABELA 6.	Resultados da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a raça	31
TABELA 7.	Frequência da distribuição de títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a raça	32
TABELA 8.	Resultados da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a faixa etária.....	34
TABELA 9.	Frequência da distribuição de títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a faixa etária.....	34

TABELA 10.	Resultados da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a procedência.....	36
TABELA 11.	Frequência da distribuição de títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a procedência.....	36
TABELA 12.	Causas de aborto eqüino.....	38
TABELA 13.	Títulos de soroneutralização de éguas no dia do aborto e sua relação com o isolamento viral.....	39
TABELA 14.	Casos de aborto de origem bacteriana	40

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos na região de Curitiba, não vacinados contra rinopneumonite	28
FIGURA 2.	Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo o sexo.....	30
FIGURA 3.	Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo a raça	33
FIGURA 4.	Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo a faixa etária	35
FIGURA 5.	Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo a procedência	37
FIGURA 6.	Frequência de abortos em relação ao mês do ano.....	41
FIGURA 7.	Frequência de abortos em relação ao período de gestação.....	42

1. INTRODUÇÃO

Grande número de casos de aborto eqüino foi verificado, durante os últimos anos, na região próxima à Curitiba; todavia, na maioria das vezes, a etiologia não foi identificada. Por este motivo optou-se pela realização do presente trabalho.

O aborto em éguas é uma fonte de sérios prejuízos econômicos, sendo que a taxa em criações de Puro Sangue Inglês tem sido estimada como superior a 12%. O assunto aborto eqüino tem sido bastante revisado, o que é uma evidência de que este problema apresenta-se de forma constante para veterinários, que são consultados, na tentativa de encontrar-se a causa e para a prevenção de ocorrências subseqüentes (ACLAND, 1987).

Segundo WITHERSPOON (1984), o aborto e a mortalidade perinatal representam expressivas perdas devido ao grande valor comercial dos potros.

Apenas com o conhecimento completo das causas de aborto, pode o clínico ajudar a reduzir as perdas de seu cliente ou ajudá-lo a aceitar e compreender aquelas perdas que ocorrem, inevitavelmente, a qualquer criador (PRICKETT, 1970a).

A probabilidade da causa de um aborto ser determinada é sempre maior, se ambos, o feto e a placenta, forem examinados em uma necrópsia facilitada. Devido às restrições de tempo, dinheiro e disponibilidade dos serviços, o veterinário é, freqüentemente, obrigado a realizar uma necrópsia a campo (ACLAND, 1987).

Ênfase tem sido dada aos últimos estágios de gestação, com achados patológicos no feto ou suas membranas, que variam com seus mecanismos de resistência (PRICKETT, 1970a).

Numerosos fatores etiológicos são responsáveis por doença fetal e aborto subseqüente. Estes fatores podem ser divididos em dois grupos: infecciosos e não infecciosos. Entretanto, em alguns casos, pode-se encontrar a confluência desses fatores no mesmo feto. Muitos fatores não infecciosos podem predispor a égua e o feto a doenças infecciosas e algumas doenças infecciosas podem predispor a égua e o feto a microrganismos oportunistas (SWERCZEK, 1991a).

Devido aos elevados prejuízos econômicos decorrentes dos episódios de aborto eqüino e a

inexistência de pesquisa nesta área no Estado do Paraná, os objetivos principais do presente trabalho foram os seguintes:

- a) determinação dos principais agentes causadores de aborto de origem infecciosa;
- b) tentativa de isolamento do Herpesvírus eqüino tipo 1 (EHV-1) a partir de órgãos fetais;
- c) correlação de eventuais alterações patológicas com seus respectivos agentes;
- d) determinação da freqüência de anticorpos neutralizantes contra o Herpesvírus eqüino tipo 1, em animais não vacinados e as possíveis influências de raça, sexo e idade;
- e) determinação da freqüência de eqüinos soropositivos à leptospirose; e
- f) estudo da freqüência dos casos de aborto na região de Curitiba.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades

Aborto é a expulsão do feto, durante o período entre o término da organogênese embrionária e a gestação a termo.

A patogênese do aborto pode ser prolongada, como em casos em que há evidências de crescimento fetal retardado, desnutrição fetal ou patologia placentária crônica, ou súbita, onde estes sinais estão ausentes. A morte fetal ocorre antes do delivramento em alguns casos mas, em outros, o coração fetal continua a bater e podem haver movimentos respiratórios por alguns minutos pós-parto (ROSSDALE & RICKETTS, 1976).

A etiologia e a epidemiologia do aborto eqüino estão sumarizadas na Tabela 1 (ROSSDALE & RICKETTS, 1976, modificado).

TABELA 1. Etiologia, incidência com relação à idade gestacional e epidemiologia.

Fator causal	Idade gestacional de maior incidência (dias)	Epidemiologia	Referências
A. <u>INFECCIOSO</u>			
BACTERIANO			
<i>Streptococcus pyogenes</i> var <i>eqüi</i>	< 200	Não contagioso	DIMOCK et al. (1947)
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 200		
<i>Escherichia coli</i>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Salmonella typhimurium</i>			
<i>Brucella abortus</i>		Contagioso	MC CAUGHEY & KERR (1967)
Leptospirose	210-340		JACKSON et al. (1967)
<i>Salmonella abortus equina</i>	180-270		BRYANS (1972)
VIROLÓGICO			
Herpesvírus eqüino tipo 1 (EHV-1)	270-300	Contagioso	DOLL & BRYANS (1963)
Arterite viral eqüina	150-300		DOLL et al. (1957)
FÚNGICO			
<i>Mucor</i> e <i>Aspergillus</i> spp.	250	Não contagioso	MAHAFFEY & ADAM (1964)
B. <u>NÃO INFECCIOSO</u>			
IDENTIFICADO			
Gestação gemelar	210-300	Não contagioso	JEFFCOTT & WHITWELL (1974)
Placentite idiopática	250		
Anormalidades do cordão umbilical	Todos os estágios		
POSTULADO			
Distúrbio na relação materno- fetal	Todos os estágios	Não contagioso	WHITWELL (1975) VAN NIEKERK (1965)
Disfunção endócrina	150		
Incompetência endometrial	100		
Anormalidades cromossômicas fetais	Todos os estágios		
Fatores imunológicos	Todos os estágios		

O diagnóstico é realizado através do exame do feto e suas membranas, da bacteriologia do trato genital da égua, na idade gestacional, no histórico reprodutivo da égua, nos possíveis fatores de manejo e nutrição, na sorologia e epidemiologia.

A Tabela 2, apresenta exemplos de determinados achados patológicos utilizados no diagnóstico diferencial das causas de aborto eqüino.

TABELA 2. Achados patológicos diferenciais.

ASSOCIAÇÃO ETIOLÓGICA	APARÊNCIA		MICROBIOLOGIA
	MACROSCÓPICA	MICROSCÓPICA	
EHV-1	Icterícia. Excesso de fluido pleural e peritoneal (coloração amarelada ou sanguinolenta). Pontos necróticos no fígado. Pulmões com petéquias. Rins hemorrágicos.	Necrose hepática focal; corpúsculos de inclusão intranucleares.	Isolamento do EHV-1.
Infecção bacteriana	Excesso de fluido pleural e pericárdico. Miocárdio com petéquias. Espessamento da placenta. Carcaça congesta.	Resposta polimorfonuclear pode ser observada nos tecidos.	Crescimento em cultura pura em pelo menos dois órgãos. A cultura uterina pode ser utilizada para confirmar-se o diagnóstico.
Infecção micótica	Espessamento da placenta com exsudato pegajoso cobrindo a superfície coriônica. Manchas brancas nos pulmões.	Presença de hifas na placenta; hifas e células gigantes em áreas focais dos pulmões.	Isolamento de fungo.
Degeneração post-mortem	Aparência hemorrágica dos intestinos; fluidos peritoneal, pleural e pericárdico hemorrágicos. Fígado e rins friáveis.	Degeneração tissular difusa	Vísceras estéreis ou com contaminação bacteriana.

Outro aspecto importante a ser considerado é que em muitos casos o feto apresenta uma infecção bacteriana, viral ou micótica, mas a causa primária do aborto é um fator não infeccioso (SWERCZEK, 1991b).

O crescimento fetal retardado geralmente sugere doença placentária crônica ou lesões endometriais que interferem com a função microcotiledonar. Quando o feto apresenta tamanho e peso normais para sua idade, a morte fetal foi provavelmente causada por um evento súbito. Exemplos de tais eventos são: infecção pelo Herpesvírus equino tipo 1 e "stress" (SWERCZEK, 1991a).

2.2. Causas não infecciosas de aborto

Como causas não infecciosas de aborto e morte perinatal aparecem: gestação gemelar, malformações congênitas, síndrome da diarréia fetal, anormalidades do cordão umbilical, prenhez de corpo uterino, insuficiência placentária, separação placentária prematura, asfixia perinatal, fator nutricional e/ou tóxico, disfunção endócrina e anormalidades cromossômicas (SWERCZEK, 1991b).

2.2.1. Gestação gemelar

Nutrição inadequada devido à insuficiência placentária é a explicação usual para a morte de um dos fetos, seguindo-se o aborto como consequência.

Aproximadamente 13% das éguas da raça Puro Sangue Inglês concebem gêmeos, mas apenas entre 0,5 e 1,0% destas éguas abortam, ou, raramente, levam a gestação a termo (SWERCZEK, 1991b). GINTHER (1989) constatou que 85% dos gêmeos unilaterais sofrem redução espontânea a uma prenhez única dentro de 40 dias.

2.2.2. Malformações congênitas

A incidência de anomalias em fetos abortados é provavelmente muito maior do que a encontrada em potros vivos, já que muitas anomalias responsáveis por abortos precoces não são detectadas ou o feto não é encontrado para exame.

WHITWELL (1980) encontrou malformações em 2 a 3% de fetos abortados e natimortos. ROSSDALE & RICKETTS (1980) citaram a significância de anomalias fetais como causas de abortos não infecciosos.

Muitos fetos sobrevivem às anomalias de desenvolvimento, tais como hidrocefalia, atresia de cólon, atresia de intestino delgado e coração ectópico, até o momento do parto, quando apresentam-se já como natimortos ou morrem logo em seguida. Fetos com contraturas dos membros anteriores e articulações anquilosadas, geralmente resultam em distocia e apresentam-se como natimortos (HUGHES & DAELS, 1991).

2.2.3. Síndrome da diarreia fetal

Ocorre quando o feto defeca mecônio líquido dentro da cavidade amniótica, este pode ser aspirado para dentro dos pulmões e, conseqüentemente, o feto é abortado ou nasce fraco, morrendo, com frequência, logo após o nascimento (SWERCZEK, 1991b).

2.2.4. Anormalidades do cordão umbilical

Segundo SWERCZEK (1991b), quando o cordão é muito longo, ele pode envolver um apêndice fetal, ocorrendo então infarto das membranas placentárias e subsequente aborto. Se o cordão é muito curto, pode romper-se prematuramente ocasionando aborto ou asfixia perinatal. Uma torção excessiva do cordão causa edema, hemorragia e distúrbio circulatório mortal ao feto.

2.2.5. Prenhez de corpo uterino

Ocorre quando os cornos corioalantóicos falham em expandir-se e o feto desenvolve-se no corpo do útero. A causa desta condição não é conhecida, estando, provavelmente, relacionada a lesões nos cornos uterinos. O aborto acontece geralmente entre o 7º e o 10º mês de gestação (PRICKETT, 1970a).

2.2.6. Insuficiência placentária

A razão primária para insuficiência placentária está relacionada com lesões uterinas pré-existentes. KENNEY (1978), foi o primeiro a propor a fibrose uterina periglandular difusa como causa de morte embrionária e fetal. Os vilos coriônicos apresentam-se irregulares e atrofiados. Frequentemente, há uma placentite crônica com calcificação distrófica dos vilos coriônicos.

2.2.7. Separação placentária prematura

O feto freqüentemente morre de asfixia, se o corioalantóide separar-se do útero antes ou enquanto o potro passa através do canal de nascimento. Este fato parece estar relacionado a condições que causam um espessamento do corioalantóide na área cervical e do corpo uterino. A combinação de uma dieta altamente proteica e “stress” parecem induzir a edema placentário, que pode causar separação placentária prematura (SWERCZEK, 1991b).

2.2.8. Asfixia perinatal

Há muitas causas de asfixia perinatal, mas a distocia causada por potros grandes e/ou mal posicionados, é a causa mais comum (SWERCZEK, 1991b).

2.2.9. Fator nutricional e/ou tóxico

Como exemplo de origem tóxica aparece o aborto causado pelo ergotismo, em decorrência da alimentação de éguas prenhes com sementes contendo o fungo *Claviceps purpurea*, ocorrendo espessamento da placenta e agalaxia (CORREA, 1990).

Outra causa a ser citada, é a toxidez das pastagens de festuca, que está associada com a presença do fungo endófito *Acremonium coenophialum* (SIEGEL, 1985). O mecanismo de ação das toxinas não é conhecido. As manifestações comuns da toxidez da festuca na égua são agalactia e gestação prolongada, geralmente por até duas semanas ou mais. Não há desenvolvimento do úbere, quando ocorre, há pouca ou nenhuma produção de leite. Os potros que nascem vivos são geralmente fracos e maiores do que o normal, devido à gestação prolongada. A placenta inteira apresenta-se edemaciada e mais espessa do que o normal, especialmente na área cervical (SWERCZEK, 1991b).

2.2.10. Disfunção endócrina

Segundo ALLEN (1984), a deficiência de progesterona é freqüentemente incriminada como causa de aborto na égua, entretanto, ainda faltam evidências para que isto seja comprovado como causa primária de aborto.

O corpo lúteo é a única fonte de progesterona na fase inicial da gestação. A produção de

progesterona é aumentada através da formação dos corpos lúteos acessórios por volta dos dias 35 a 45. Aos 140-150 dias de gestação, a placenta assume a secreção de progesterona.

As condições de “stress” tais como: dor severa (cólica, laminite), doenças infecciosas, distúrbios emocionais (separação do potro) e corticosteróides exógenos, exercem na égua prenhe efeito depressivo nos níveis plasmáticos de progestágenos, o que explicaria as perdas fetais que ocorrem nestas condições (VAN NIEKERK & MORGENTHAL, 1982).

2.2.11. Anormalidades cromossômicas

Enquanto que anormalidades cromossômicas são responsáveis por aproximadamente um quarto dos abortos em humanos (EDWARDS, 1988), tem-se muito pouca informação do seu papel com relação ao aborto eqüino.

2.3. Causas infecciosas de aborto

Como agentes de abortos infecciosos são isolados principalmente, vírus, bactérias e fungos, embora micoplasmas e protozoários também tenham sido descritos.

2.3.1. Causas virais

As causas virais mais comuns de aborto são o Herpesvírus eqüino tipo 1 e a arterite viral eqüina, ambas de caráter contagioso (SWERCZEK, 1991c).

Herpesvírus eqüino tipo 1

O Herpesvírus eqüino tipo 1 (EHV-1) é descrito pela literatura como sendo a mais importante causa única de aborto de origem infecciosa (ACLAND, 1987). Os primeiros casos de aborto eqüino com sinais clínicos sugestivos de etiologia viral foram publicados por DIMOCK & EDWARDS, em 1933, nos Estados Unidos.

Em 1941, na Hungria, MANNINGER & CSONTOS demonstraram que o agente etiológico do aborto eqüino a vírus causava também doença respiratória, principalmente em potros.

No Brasil, em 1966, NILSON & CORRÊA isolaram pela primeira vez o vírus do aborto eqüino

em hamsters lactentes, a partir do fígado de feto abortado.

O Herpesvírus eqüino tipo 1 é um ADN-vírus, envelopado e pertencente à subfamília *Alphaherpesvirinae*, da qual também fazem parte o citomegalovírus eqüino (EHV-2) e o vírus do exantema coital eqüino (EHV-3).

Através de estudos de características de cultivo, testes sorológicos e impressão de ADN (com a utilização de enzimas de restrição) foram identificados dois subtipos: o subtipo 1, causador de aborto, doença respiratória e doença neurológica; e o subtipo 2, causador de doença respiratória e raramente responsável por abortos (STUDDERT & BLACKNEY, 1979). O subtipo 1 é também chamado cepa fetal e o subtipo 2, cepa respiratória.

Trabalhos recentes têm sugerido que estes dois subtipos sejam identificados como EHV-1 (vírus do aborto eqüino) e EHV-4 (vírus da rinopneumonite eqüina) (FITZPATRICK & STUDDERT, 1984).

SÍNDROMES CLÍNICAS

Doença respiratória

A doença respiratória pelo EHV-1 é de caráter agudo, ocorre principalmente em potros e caracteriza-se por febre, anorexia e descarga nasal serosa profusa que, posteriormente, torna-se mucopurulenta. Há uma necrose extensa das células epiteliais do trato respiratório superior, especialmente na cavidade nasal, acompanhada por uma reação inflamatória aguda. O vírus pode alcançar os pulmões e ocasionar uma broncopneumonia com infecção bacteriana secundária, principalmente pelo *Streptococcus* do grupo C de Lancefield (STUDDERT, 1974; BURROWS & GOODRIDGE, 1979; LIU, 1979). Todavia, a incidência de eqüinos com anticorpos para o EHV-1 é maior do que a incidência da doença aguda, portanto, infecções subclínicas são comuns.

Aborto

Éguas prenhes podem abortar 14 a 120 dias, após a exposição ao vírus, sem mostrar quaisquer sinais clínicos da doença (DOLL & BRYANS, 1962a). A maioria das éguas aborta entre 6 e 11 meses de gestação (BRYANS, 1978).

Abortos múltiplos por EHV-1 indicam uma falta de imunidade do rebanho recentemente exposto ao vírus. Estes abortos são incomuns em rebanhos em que não há entrada de novos animais

após o primeiro trimestre de gestação (SWERCZEK, 1986).

As fontes de disseminação viral são a via respiratória, fetos abortados e fluidos fetais.

A patogênese do aborto por EHV-1 ainda não está bem elucidada. O vírus replica-se na mucosa nasofaríngea, traquéia e brônquios e então dissemina-se para o tecido linfático regional. Invade o endotélio vascular e causa a viremia através da infecção de leucócitos periféricos (ALLEN & BRYANS, 1986). Presume-se que, durante a viremia, o EHV-1 dissemine-se via transplacentária através do contato célula a célula de leucócitos periféricos infectados.

Evidências clínicas e experimentais indicam que o aborto pode ocorrer após infecções recentes ou latentes. A reativação, ou iniciação da replicação viral após um estado de quiescência, foi demonstrada através do isolamento do EHV-1, em leucócitos de pôneis, 17 semanas após a infecção experimental, seguida da administração de altas doses de glicocorticóides (EDDINGTON & BRIDGES, 1985).

As lesões de feto abortados antes do 6º mês de gestação diferem daquelas de fetos abortados após o 7º mês (PRICKETT, 1970b). Os abortos mais precoces são caracterizados por um feto severamente autolisado, com inclusões intranucleares dispersas, sem resposta inflamatória local. Em contraste, a maioria dos fetos abortados após o 7º mês de gestação apresenta uma ou mais das seguintes lesões em vários graus:

- coloração ictérica da placenta, cascos e tecido subcutâneo;
- hiperemia e petéquias na conjuntiva e na cavidade oral;
- edema subcutâneo, especialmente na fronte e no pescoço;
- edema da região superior do pescoço e em volta da traquéia anterior e laringe;
- quantidade excessiva de transudato nas cavidades torácica e abdominal;
- edema peri-renal;
- glândulas adrenais hemorrágicas;
- baço aumentado com folículos linfóides proeminentes; e
- pontos brancos de necrose no fígado.

As lesões em fetos, com menos de 6 meses de gestação, sugerem falta de resposta à infecção viral, em contraste com fetos abortados durante os últimos 4 meses de gestação, que exibem reações celulares características ao vírus.

As lesões microscópicas do EHV-1 são características e ocorrem com maior frequência nos pulmões, fígado, timo, baço e adrenais. No fígado, além dos focos de necrose, há uma hepatite portal com acúmulo variável de células mononucleares, proliferação de histiócitos e ductos biliares. As adrenais apresentam focos de necrose e hemorragia. Ocorre necrose de linfócitos no timo, no baço,

nos linfonodos próximos aos pulmões e fígado, e nos linfonodos mesentéricos. Nos pulmões, há bronquite e bronquiolite necrotizantes e pneumonia com hemorragia. Nos tecidos peribronquiolares e perivasculares existe infiltração de células mononucleares. Nos alvéolos encontra-se um exsudato serofibrinoso. Um edema interlobular também pode estar presente. Os corpúsculos de inclusão intranucleares eosinofílicos ocorrem no fígado, pulmões, adrenais e, ocasionalmente, no intestino delgado (SWERCZEK, 1991c).

Para o isolamento do EHV-1, devem ser colhidos fragmentos do timo, pulmão, fígado e baço do feto. Embora o EHV-1 multiplique-se em uma variedade de linhagens celulares, são utilizadas para isolamento de rotina as linhagens VERO e RK 13. Após a observação dos efeitos citopáticos, a identificação do EHV-1 é realizada através de testes com anticorpos fluorescentes ou neutralização viral.

A imunofluorescência em seções de timo, pulmão, fígado e baço proporciona um diagnóstico rápido e acurado do aborto por EHV-1.

Com relação à sorologia, devido ao período de incubação entre a infecção e o aparecimento da doença, o soro colhido de uma égua, no momento do aborto, geralmente apresenta quantidades máximas de anticorpos. Assim, não é esperado um aumento no título de anticorpos após o aborto. A sorologia, como teste único para o diagnóstico do aborto por EHV-1, é de pouco valor.

Encefalomielite

A encefalomielite, uma manifestação incomum da infecção por EHV-1 em cavalos, produz sinais clínicos de ataxia, relutância ao movimento, quedas, paralisia e outras anormalidades associadas ao sistema nervoso central (JACKSON et al., 1977).

EPIDEMIOLOGIA

O vírus está mundialmente distribuído e tem sido identificado como patógeno de outros eqüídeos selvagens (MONTALI, ALLEN & BRYANS, 1985). Todas as três formas da doença têm sido descritas na maioria dos países em que a infecção foi identificada (BRYANS & ALLEN, 1986).

Nos últimos anos, a epidemiologia da infecção pelo EHV-1 tornou-se mais complexa com o aparecimento de outras síndromes além da doença respiratória e aborto (CAMPBELL & STUDERT, 1983). O Herpesvírus eqüino tipo 1 foi isolado em 22 de um total de 27 potros que morreram em uma

propriedade, durante um surto de partos prematuros e mortes perinatais (HARTLEY & DIXON, 1979).

Arterite viral eqüina

Segundo SWERCZEK (1991c), a arterite viral eqüina é responsável por menos que 1% dos fetos abortados vistos na necrópsia.

O agente etiológico, primeiramente isolado e identificado como vírus por DOLL et al. (1957), foi classificado como membro único do gênero Arterivirus, no grupo dos togavírus.

Os sinais clínicos variam com a cepa viral envolvida, mas os casos típicos da doença apresentam os seguintes sinais:

- a) febre de até 41 °C, que desenvolve-se após um período de incubação de 3 a 14 dias (geralmente 6 a 8 dias após a transmissão venérea) e que persiste por 5 a 9 dias;
- b) edema dos membros, especialmente dos posteriores;
- c) secreção nasal e ocular (rinite e conjuntivite);
- d) edema periorbital;
- e) anorexia variável e depressão;
- f) erupção da pele, mais comumente na região do pescoço;
- g) edema do escroto e prepúcio no garanhão;
- h) aborto; e
- i) com menor frequência: dispnéia, tosse, diarreia e ataxia.

A doença é transmitida lateralmente através da via respiratória (McCOLLUM, PRICKETT & BRYANS, 1971) e também via venérea (TIMONEY & McCOLUM, 1985).

O aborto pode ocorrer dentro de poucos dias após o início dos sinais clínicos e até duas semanas mais tarde. As éguas podem abortar em qualquer estágio após o 3º mês de gestação.

Os fetos apresentam moderada a acentuada decomposição, com autólise e quantidade excessiva de fluido serosanguinolento nas cavidades serosas (SWERCZEK & ROBERTS, 1990).

Segundo COIGNOUL & CHEVILLE (1984), o aborto na arterite viral eqüina pode ocorrer como resultado da miometrite na égua. O decréscimo no suprimento sanguíneo da placenta e do feto resulta da compressão mecânica dos vasos, em decorrência do edema ou perda da tonicidade do miométrio. Segue-se o descolamento placentário com a expulsão de um feto morto ou moribundo. Um outro mecanismo adicional possível do aborto envolve um decréscimo na produção de progesterona pela placenta lesionada com liberação local de prostaglandinas.

2.3.2. Causas bacterianas

Uma das causas mais comuns de infecções genitais na égua é a pneumovagina, provocada por um fechamento insuficiente da vulva e vestíbulo, associada a uma deficiência de conformação perineal (SILVA, 1983). Como consequência, a rota ascendente (via cervical) é a maneira mais comum de infecção nos casos de aborto de origem bacteriana. A via hematógena ocorre quando há septicemia na égua.

A inflamação do alantocórion é mais severa na região do cérvix. A placenta apresenta-se edemaciada e a superfície coriônica, geralmente, amarronzada com uma pequena quantidade de exsudato fibrinonecrótico. A infecção dissemina-se no feto e os microrganismos podem ser isolados de vários órgãos. As lesões fetais não são específicas e podem ser nada mais que um fígado aumentado e quantidade excessiva de fluido nas cavidades corporais. O aborto é causado pela morte fetal, por septicemia ou pela expansão da área de corionite que determina insuficiência placentária (ACLAND, 1987).

Há um consenso geral de que *Streptococcus* spp. são as bactérias mais freqüentemente recuperadas de fetos abortados. Outros organismos comumente encontrados são: *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. e *Staphylococcus* spp. (ACLAND, 1987).

A importância da leptospirose como causa de aborto em eqüinos está descrita em vários trabalhos, citando-se aqui como referência o trabalho de ELLIS & O'BRIEN (1988).

Segundo relato de PRICKETT (1970), em raras ocasiões, membros do gênero *Clostridium* infectam a placenta eqüina e causam doença fetal aguda. Em alguns casos, ocorre formação intersticial de gás. Quando esta não ocorre, a alteração mais significativa é a descoloração da superfície alantóica, próxima à região cervical.

Os *Streptococcus* hemolíticos do grupo C causam aborto, geralmente, entre 90 a 130 dias de gestação (MAHAFFEY, 1968). O *Streptococcus zooepidemicus* é a bactéria mais comumente associada com placentite infecciosa (PRICKETT, 1970).

A *Escherichia coli* causa doença fetal aguda e placentite difusa. As principais alterações macroscópicas são a coloração marrom-avermelhada do córion e a autólise do feto (PRICKETT, 1970).

A *Pseudomonas aeruginosa* determina principalmente lesão restrita à região cervical do alantocórion. Microscopicamente, a lesão caracteriza-se por necrose das vilosidades epiteliais, fibrose, discreta infiltração inflamatória e presença de grande número de cocos gram-negativos (PRICKETT, 1970).

Brucella abortus (McNUTT & MURRAY, 1924), *Borrelia burgdorferi* (BURGESS et al., 1987) e

Campylobacter spp. (HONG & DONAHUE, 1989), ocasionalmente, causam aborto.

Bactérias encontradas, com menor frequência, em fetos abortados: *Klebsiella pneumoniae*, coliformes, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Streptococcus equisimilis*, *Actinobacillus equuli*, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter* spp.. Quando *Streptococcus equi* e *Rhodococcus equi* são encontrados, a égua foi primariamente infectada, e depois o feto. *Mycoplasma* spp. tem sido isolado de fetos eqüinos, mas, seu papel como causador de aborto, ainda não foi estabelecido (LANGFORD, 1974).

Leptospirose

Os aspectos clínicos relatados de leptospirose aguda em eqüinos incluem febre, depressão, anorexia e icterícia; enquanto que a infecção crônica está caracterizada por aborto, partos prematuros e oftalmia periódica (MORTER et al., 1969; WILLIAMS et al., 1971).

No Brasil, FREITAS e cols. (1958) notificaram a ocorrência dos dois primeiros casos de aborto eqüino por leptospirose.

A urina de animais infectados de várias espécies é a principal fonte de infecção, já que a leptospirúria prolonga-se por vários meses após a exposição.

Na maioria dos casos, a *Leptospira* spp. não produz sinais clínicos na égua. A incidência de abortos por leptospira varia de ano para ano dependendo das condições ambientais. Umidade alta e pH alcalino do solo favorecem a sobrevivência do microrganismo.

As espécies mais comuns para as quais os eqüinos possuem anticorpos são: *Leptospira pomona*, *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira canicola*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira bratislava* e *Leptospira grippotyphosa* (SWERCZEK, 1990).

As lesões macroscópicas encontradas em casos de aborto não são de grande valor diagnóstico. O feto geralmente apresenta autólise leve, com quantidade aumentada de fluido serosanguinolento, nas cavidades corporais. Existe também uma placentite moderada difusa.

Histologicamente, na placenta são encontradas lesões em maior grau no córion. Há uma reação inflamatória perivascular no alantocóron, com predominância de mononucleares (SWERCZEK, 1991c).

As trabéculas hepáticas aparecem dissociadas e com retenção de pigmentos biliares no parênquima; nos rins, lesões de nefrose albuminóide com pequeno número de células em necrose e hemorragias intersticiais moderadas ou acentuadas; hemorragias nas mucosas intestinais e edema

discreto nos alvéolos pulmonares (MACRUZ, 1991).

O diagnóstico laboratorial do aborto por leptospirose pode ser confirmado através do isolamento do agente a partir do material fetal, mas isto requer um período considerável de tempo para crescimento e identificação, além de certas técnicas especiais (ELLIS & O'BRIEN, 1988).

2.3.3. Causas fúngicas

O aborto atribuível a uma infecção fúngica acontece como resultado de uma corionite que inicia-se no pólo cervical. A aparência macroscópica pode ser bastante similar à corionite bacteriana; mas, microscopicamente, existe um grande número de hifas.

O fungo mais freqüentemente associado com aborto é o *Aspergillus fumigatus*, mas *Mucor* spp., *Allescheria boydii* (MAHAFFEY & ROSSDALE, 1965) e *Coccidioides immitis* (LANGHAM et al., 1977) têm também sido descritos.

Em alguns casos, podem aparecer nódulos branco-acinzentados, de até 3 mm de diâmetro, distribuídos em toda a superfície dos pulmões. No interior destes nódulos, observa-se, microscopicamente, células gigantes contendo micélios (MAHAFFEY, 1968). Ocasionalmente, ocorre uma dermatite fetal micótica que apresenta-se na forma de placas acinzentadas (ACLAND, 1987).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Tendo em vista a abrangência do assunto em análise, dividiu-se a pesquisa em três etapas:

- a) investigação sorológica do rebanho para o Herpesvírus eqüino tipo 1 e para leptospirose;
- b) coleta e processamento do material de casos individuais de aborto; e
- c) levantamento estatístico geral dos casos de aborto.

3.1. Amostras de soro sanguíneo

Para a detecção de anticorpos anti Herpesvírus eqüino tipo 1, foram colhidas 299 amostras de soro sanguíneo, de animais não vacinados contra rinopneumonite, sendo provenientes de 99 machos e 200 fêmeas, com idade mínima de 1 ano. O número de amostras, agrupado segundo a raça, é descrito a seguir:

226 - Puro Sangue Inglês:

42 - Raças para Hipismo (Brasileiro de Hipismo, Hanoveriano, Westphalen e Reitpony);

20 - Árabe; e

11 - Mestiços.

Destes animais, 179 eram animais de haras e 120 estavam alojados no Jockey Club do Paraná.

Para sorologia para leptospirose, foram colhidas 145 amostras de animais de haras.

3.2. Coleta de material

Os fetos foram coletados em haras próximos a Curitiba, em um raio de 70 km, sendo a raça predominante o Puro Sangue Inglês (PSI).

O manejo dos animais foi o habitualmente empregado nestas criações, com atenção maior a

possíveis sinais premonitórios e indicativos de aborto.

Com relação à investigação sorológica, para o Herpesvírus eqüino tipo 1, foram coletadas amostras de animais de haras e do Jockey Club do Paraná; para leptospirose, apenas amostras de animais de haras.

Após a ocorrência do aborto e no menor espaço de tempo possível, a coleta do material foi realizada obedecendo-se a seqüência abaixo:

- a) Exame cuidadoso da placenta e coleta de fragmentos da mesma para exames histológico e bacteriológico;
- b) Exame do cordão umbilical e coleta de fragmentos para histologia; e
- c) Necrópsia do feto e coleta de material para bacteriologia, virologia e histologia.

Para bacteriologia, foram coletados fragmentos de pulmão, fígado e o conteúdo estomacal.

Para virologia, foram coletados fragmentos de timo, pulmão e fígado.

Para histologia, foram coletados fragmentos de timo, pulmão, fígado, baço, rim, intestino e coração; fixados em Solução de Bouin ou formol a 10%.

O material coletado para bacteriologia e virologia foi acondicionado em recipientes estéreis e transportado até o laboratório em caixa de isopor com gelo. O material coletado para virologia foi armazenado em "freezer" a -80 °C, até o momento do processamento.

- d) Coleta de sangue para exame sorológicos.

As amostras de sangue foram colhidas em tubos estéreis através de punção da veia jugular direita ou esquerda, com agulha descartável 40x12 mm, após prévia assepsia do local com álcool iodado. Depois da coagulação e obtenção do soro, as amostras foram armazenadas em "freezer" a -20 °C.

- e) Preenchimento do protocolo de questões. Modelo:

Município (localização):

Propriedade:

Nome da égua:

Idade:

Raça:

Alimentação:

Data e hora do aborto:

Hora da coleta:

Período de gestação:
Aborto gemelar ou único:
Garanhão pelo qual foi coberta:
Histórico reprodutivo:
Histórico de vacinação:
Outros abortos no haras:
Total de éguas prenhas:
Histórico de adubação e calagem nos piquetes:
Observações:
Resultado do exame do feto e placenta:

3.3. Métodos analíticos

3.3.1. Sorologia para Leptospirose

O método utilizado foi o de soroaglutinação microscópica, em placa (GALTON et al., 1962), usando-se 19 sorovares de *Leptospira* sp. vivas como antígeno.

A seleção destes sorovares foi realizada levando-se em consideração a ocorrência no país e no Estado do Paraná (DUTRA, 1974).

Estes sorovares foram mantidos em meio líquido de Ellinghausen, incubados à temperatura de 28 a 30 °C e transferidos semanalmente em repiques.

Foram utilizados para as provas sorológicas antígenos com 7 a 12 dias de crescimento, contendo uma densidade de 100 a 200 leptospiros por campo e previamente observados quanto à ausência da auto-aglutinação.

O método utilizado foi o seguinte:

- a) Os soros foram, inicialmente, diluídos a 1:50 em solução salina tamponada fosfatada (pH 7,4 a 7,5);
- b) os soros foram distribuídos (0,05 ml por cavidade) em microplaca e adicionou-se igual quantidade dos antígenos (diluição final 1:100);
- c) após 2 horas de incubação à temperatura de 30 °C, procedeu-se à leitura, utilizando-se microscópio equipado com campo escuro (aumento de 100x);
- d) os soros positivos nesta diluição foram progressivamente diluídos à razão de dois até

1:12.800, para verificação do título final, o qual correspondeu ao da última diluição que mostrou 50% de leptospiplas aglutinadas (Centro Panamericano de Zoonosis, 1971).

Como antígenos para a prova de aglutinação foram utilizados os sorovares de referência descritos na Tabela 3.

TABELA 3. Sorovares de referência utilizados na prova de aglutinação.

SOROVAR	CEPA
1. <i>icterohaemorrhagiae</i>	RGA
2. <i>javanica</i>	Veldrat Batavia 46
3. <i>canicola</i>	Hond Utrecht IV
4. <i>castellonis</i>	Castellon 3
5. <i>pyrogenes</i>	Salinem
6. <i>cynopter</i>	3522 C
7. <i>autumnalis</i>	Akiyami A
8. <i>sentot</i>	Sentot
9. <i>australis</i>	Ballico
10. <i>pomona</i>	Pomona
11. <i>grippotyphosa</i>	Moskva V
12. <i>hebdomadis</i>	Hebdomadis
13. <i>wolff</i>	3705
14. <i>sejroe</i>	M 84
15. <i>saxkoebing</i>	Mus 24
16. <i>bataviae</i>	Van Tienen
17. <i>tarassovi</i>	Mitis Johnson
18. <i>panama</i>	CZ 214 K
19. <i>shermani</i>	LT 821

3.3.2. Sorologia para o Herpesvírus eqüino tipo 1

Para a detecção de anticorpos anti Herpesvírus eqüino tipo 1, foi utilizada a técnica de soroneutralização em cultivo celular, com células da linhagem Vero.

O método utilizado foi semelhante ao descrito por CRANDELL et al. (1979), que consistiu no seguinte:

- a) Os soros foram previamente identificados, descongelados e inativados em banho-maria a 56 °C durante 30 minutos;
- b) foram confeccionados os mapas para localização dos soros nas placas de cultivo celular;
- c) as placas¹ utilizadas foram placas para microtitulação, de poliestireno, medindo 12,7x95mm e com 96 orifícios de fundo plano.

A esterilização das placas e garrafas de cultivo celular seguiu o método descrito por ROWE & ROMERO (1987), utilizando-se um forno de microondas;²

- d) com o auxílio de um gotejador foram colocadas 25 μ l de meio³ em cada poço das placas;
- e) numeração das placas;
- f) diluição dos soros, através da utilização de uma micropipeta⁴ de volume fixo de 25 μ l e ponteiros plásticos estéreis.

Após uma leve agitação do soro colocava-se no poço 1A 25 μ l do soro correspondente ao número no mapa; a mistura de soro e meio era aspirada e devolvida 5 vezes, a fim de obter-se uma homogenização completa (trabalhava-se neste momento com a placa inclinada em 45° com relação à horizontal).

Eram repassados 25 μ l desta diluição 1:2 para o próximo poço (no caso 2A), obtinha-se, desta forma uma diluição 1:4 e assim sucessivamente;

- g) colocação da suspensão de vírus⁵ (previamente titulado⁶ e contendo 100 DI⁷): 25 μ l em cada poço das placas;
- h) incubação em estufa comum a 37 °C durante 1 hora;
- i) colocação da suspensão de células: 150 μ l em cada poço das placas, através da utilização de células da linhagem celular Vero, na quantidade de 2.500.000 células por placa;
- j) incubação em estufa⁸ de CO₂, a 36,9 °C, com 2,0% de CO₂; e

1. Falcon, marca registrada da BECTON DICKINSON COMPANY, New Jersey/USA.

2. Sanyo, fabricação nacional, modelo EM 9003B, opera na frequência de 2.450 MHz.

3. Meio de crescimento F10-199 contendo 5% de soro fetal bovino (fórmula descrita no item "meio para cultivo celular").

4. Cabil, fabricação nacional.

5. Vírus: amostra Kentucky.

6. Método de Karber.

7. DI = doses infectantes.

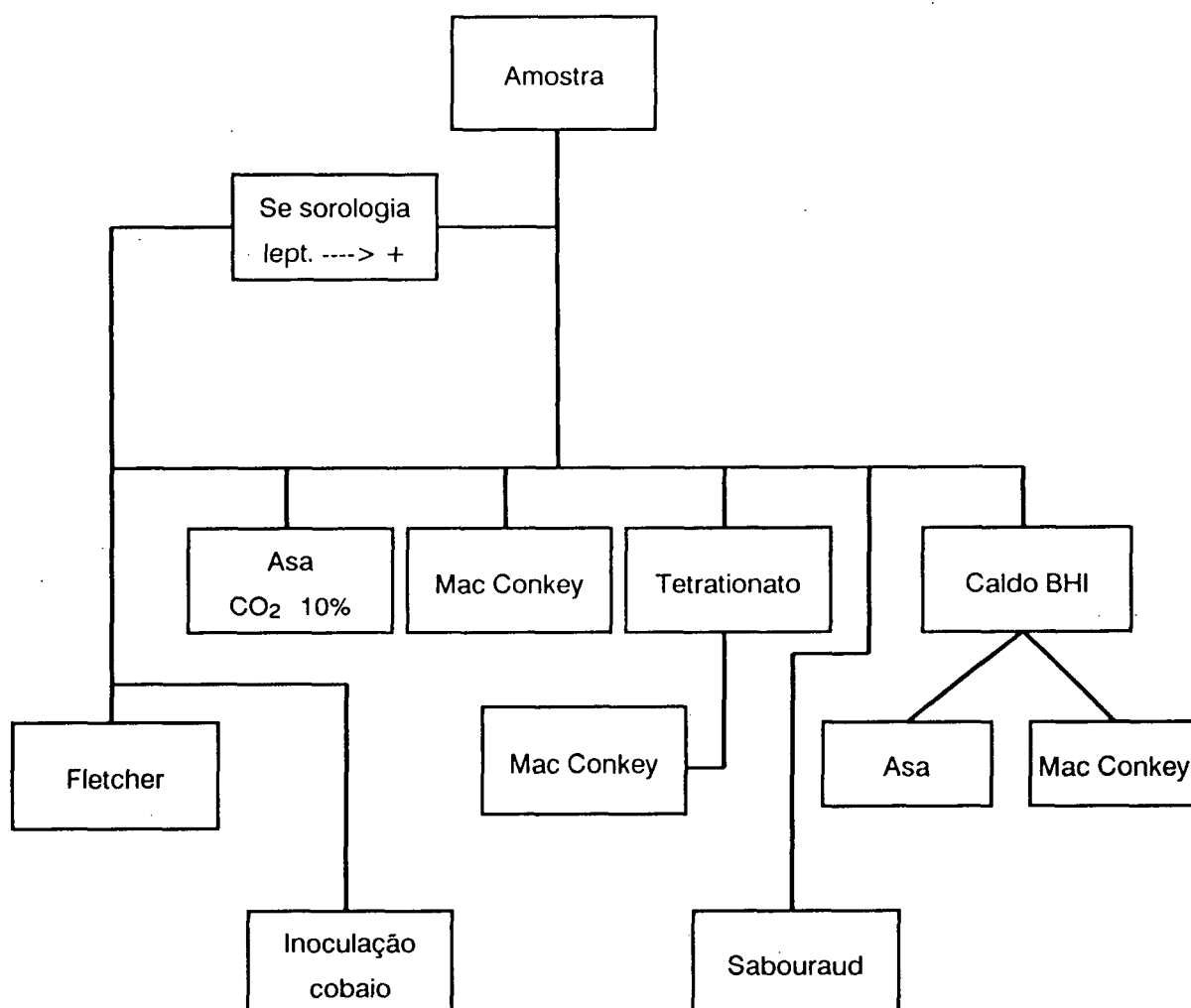
8. NAPCO SCIENTIFIC COMPANY, Oregon/EUA.

k) leituras após 72 h e 120 h.

Verificação do título final, o qual corresponde ao da última diluição que apresentou a monocamada celular íntegra, ou seja, sem efeito citopático.

3.3.3. Processamento bacteriológico

O material coletado para bacteriologia foi semeado no menor espaço de tempo possível após a chegada ao laboratório, obedecendo ao seguinte protocolo:



3.3.4. Processamento virológico

Para o diagnóstico laboratorial do Herpesvírus eqüino tipo 1 foram utilizadas as seguintes técnicas:

- a) impressão de lâminas para imunofluorescência;
- b) inoculação em cultivo celular; e
- c) inoculação em camundongos.

Culturas Celulares - a linhagem celular utilizada foi a VERO, cultivada em monocamadas com meio Eagle, com 10% de soro bovino.

Amostras de Campo - Foram processados timo, pulmão e fígado de fetos abortados, provenientes da região de Curitiba.

Animais de Laboratório - Foram utilizados, para a inoculação de amostras suspeitas, camundongos adultos com 21 dias de idade e camundongos lactentes com 2 a 4 dias de idade.

Vírus Padrão - Foi utilizada a amostra A4/72, isolada na Seção de Raiva e Encefalomielite do Instituto Biológico, em 1972, a partir de órgãos de feto abortado, proveniente do município de Campinas, e adaptada à cultura de células VERO.

Soro Padrão - Foi preparado em cobaias, através de inoculações, por via subcutânea, de 1000 DICT 50%, da cepa A4/72. Uma semana após a última inoculação as cobaias foram sangradas, por punção cardíaca, e seu soro titulado pela técnica de fixação de complemento, segundo OSLER (1952).

Conjugado Fluorescente - O soro hiperimune foi submetido à precipitação com sulfato de sódio, dialisado em solução salina, sendo posteriormente feita a dosagem da proteína pelo método do biureto, a purificação de Ig G por cromatografia, o teste de especificidade pela imunoeletroforese e a marcação da Ig G com isotiocianato de fluoresceína, segundo técnica preconizada por CAMARGO (1973).

Preparo de Amostras - O conjunto dos 3 fragmentos de órgãos fetais (timo, pulmão e fígado) foi pesado, objetivando calcular-se a quantidade necessária de meio de Eagle, para o preparo de uma suspensão a 20%. Com a utilização de um pistilo e pequena quantidade de areia estéril, procedeu-se a maceração do material e preparo da suspensão, que foi em seguida centrifugada a 3.000 r.p.m., durante 15 minutos em centrífuga refrigerada, para inoculação em sistemas sensíveis.

Inoculação em Cultivo Celular - Células VERO⁹, cultivadas em garrafas plásticas¹⁰ e também em lamínulas colocadas em tubos de Leighton, foram inoculadas com o sobrenadante da suspensão centrifugada. A seqüência do processo é apresentada a seguir:

9. Provenientes do Instituto Adolfo Lutz, repicadas com Meio Mínimo de Eagle, contendo 10% de soro bovino adulto precipitado com polietilenoglicol.

10. Marca COSTAR.

- a) Após a retirada do meio de Eagle foi inoculado nas garrafas 1 ml de suspensão a 20% e nos tubos 0,2 ml;
- b) incubação a 37 °C, durante 1 hora, para que ocorra adsorção do vírus;
- c) o inóculo era dispensado;
- d) lavagem com Meio Mínimo de Eagle (MEM) sem soro bovino;
- e) colocação de MEM com 2% de soro bovino: 5 ml nas garrafas e 1 ml nos tubos; e
- f) incubação em estufa a 37 °C durante 18 horas.

Técnica de Imunofluorescência Direta (KOTAIT et al., 1989) - As lâminas preparadas a partir da impressão de órgãos e as lamínulas dos tubos de Leighton, após fixação em acetona, durante 30 minutos, foram coradas com conjugado fluorescente e a leitura foi feita em microscópio de epiiluminação CARL ZEISS, com aumento de 400x.

Observe-se a descrição detalhada da técnica utilizada para as lâminas preparadas a partir da impressão de órgãos:

- a) Após 17 horas de "freezer" a -20 °C as lâminas foram delimitadas com esmalte na região da impressão;
- b) em seguida, foram colocadas duas gotas da mistura ¹¹ conjugado + PBS com azul de Evans¹² em cada lâmina (foram feitas duas lâminas de cada órgão);
- c) Incubação em estufa a 37 °C durante 45 minutos, em câmara úmida;
- d) as lâminas foram retiradas da estufa e imersas em PBS pH 7,7 durante 10 minutos;
- e) as lâminas foram lavadas em água destilada três vezes e colocadas em estufa a 37 °C para secagem durante 20 minutos; e
- f) a parte de baixo das lâminas foi limpa com éter, em seguida foi colocada uma gota de glicerina tamponada em cada lâmina e, após isto, foram colocadas as lamínulas.

Observação:

Controles positivos: cérebro, pulmão e fígado de Gerbil infectado com Herpesvírus eqüino tipo 1.

Controles negativos: cérebros de cobaias.

11. Diluição do conjugado: 1:7 = 1 gota do conjugado puro + 6 gotas de PBS com azul de Evans.

12. Solução de PBS com azul de Evans:
 - solução mãe 20mg/100ml PBS;
 - solução de estoque 1:10 (2mg%); e
 - solução de uso 1:100 (0,2mg%).

Inoculação de Animais - Cada suspensão de órgãos de feto abortado foi inoculada em 8 camundongos adultos e 8 camundongos lactentes. A inoculação foi via intra-cerebral, utilizando-se seringas descartáveis para insulina.

Os camundongos adultos foram inoculados com 0,03 ml de suspensão e os camundongos lactentes, com 0,01 ml.

3.3.5. Método histológico

Os fragmentos de órgãos fetais e placenta, após fixação em formol a 10% ou Solução de Bouin, foram recortados para processamento histológico de rotina. O material foi processado em um processador automático de tecidos¹³, incluído em parafina, seccionado a 5 μ m de espessura e corado pela técnica da Hematoxilina de Harris-Eosina. Os cortes foram examinados ao microscópio ótico sob os aumentos de 40 x, 100 x, 400 x e, sempre que necessário, 1000 x sob imersão.

3.4. Solução

SOLUÇÃO TAMPÃO DE FOSFATO (PBS - *phosphate buffer solution*)

Solução A

NaCl.....	8,0g
KCl.....	0,2g
Na ₂ HPO ₄	1,15g
KH ₂ PO ₄	0,2g
Água deionizada.....	800ml

Autoclavar a 110 °C durante 10 minutos.

Solução B

CaCl ₂	0,14g
Água deionizada.....	100ml

Autoclavar a 110 °C durante 10 minutos.

13. Histotécnico OMA PV.85 - Metalúrgica Oma Ltda. - São Paulo, SP.

Solução C

MgCl ₂ . 6H ₂ O.....	0,1g
Água deionizada.....	100ml

Autoclavar a 110 °C durante 10 minutos.

3.5. Meio para cultivo celularMEIO DE CULTURA F10-199

Água destilada..... 2.000ml

1 pacote de Meio Ham's F10,¹⁴ com glutamina e sem bicarbonato de sódio, em pó para fazer 1 litro.

1 pacote de Meio 199¹⁴ com sais de Hank, com glutamina e sem bicarbonato de sódio, em pó para fazer 1 litro.

NaHCO₃..... 2,6g

Penicilina G potássica (400.000 UI) e estreptomicina

(400 mg) 2,0ml

- Coloca-se 1 litro de água destilada em balão de vidro;
- adiciona-se os conteúdos dos pacotes;
- acrescenta-se NaHCO₃ (bicarbonato de sódio) e mistura-se até dissolver bem;
- completa-se com o restante da água e filtra-se; e
- o meio é distribuído em garrafas e armazenado na geladeira.

14. SIGMA CHEMICAL COMPANY P.O. BOX 14508, ST. Louis/USA.

4. RESULTADOS

4.1. Sorologia para leptospirose

Foram examinados 145 soros pertencentes a animais com idade mínima de 1 ano, provenientes de haras, com o objetivo de determinar a frequência de aglutininas anti-leptospira. Das amostras testadas, 23 (15,9%) apresentaram reação contra um ou mais sorovares, obtendo-se os seguintes resultados:

<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	18 (64,3%)
<i>L. autumnalis</i>	2 (7,1%)
<i>L. tarassovi</i>	2 (7,1%)
<i>L. wolffi</i>	2 (7,1%)
<i>L. shermani</i>	2 (7,1%)
<i>L. hebdomadis</i>	1 (3,6%)
<i>L. pyrogenes</i>	1 (3,6%)

Entre os animais coletados, 59 eram éguas com histórico conhecido de aborto e destas, 20 (33,9%) apresentaram sorologia positiva para leptospirose.

As éguas de três propriedades com surtos de aborto apresentaram alta incidência de soropositividade.

Em uma destas propriedade, de um total de 12 éguas prenhes, 5 abortaram, apresentando títulos altos ($\geq 1:400$) para a *L. icterohaemorrhagiae*. Os abortos ocorreram no 5º, 6º, 7º, 8º (2 casos) e 9º mês.

4.2. Sorologia para o Herpesvírus eqüino tipo 1

4.2.1. Avaliação geral dos resultados

Foram coletadas 299 amostras de soro sanguíneo de eqüinos, não vacinados contra rinopneumonite, na região de Curitiba. Deste total, 53 (17,7%) apresentaram anticorpos para o Herpesvírus eqüino tipo 1, sendo: 20 animais (6,7%) com título 1:2, 6 animais (2,0%) com título 1:4 e 27 animais (9,0%) com título 1:8 ou maior.

Estes resultados podem ser melhor visualizados, observando-se a Figura 1.

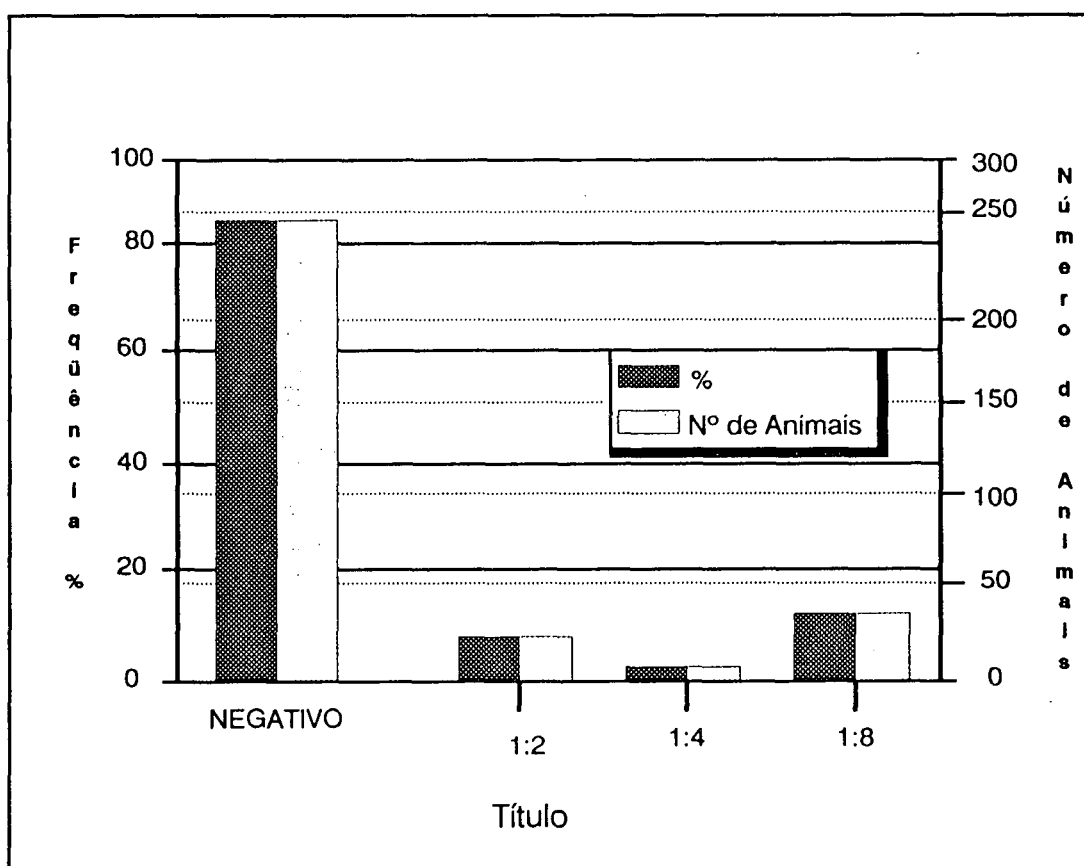


FIGURA 1. Frequência dos títulos de anticorpos anti Herpesvírus eqüino tipo 1 em soros sanguíneos de eqüinos criados na região de Curitiba, não vacinados contra rinopneumonite.

4.2.2. Análise dos resultados da prova de soroneutralização para Herpesvírus eqüino tipo 1, segundo o sexo dos eqüinos estudados

Os resultados da soroneutralização em soro sanguíneo de eqüinos da região de Curitiba foram agrupados segundo o sexo dos animais e são apresentados na Tabela 4.

TABELA 4. Resultados da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo o sexo.

Resultado / Sexo	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Machos	13	13,1 ^a	86	86,9 ^a	99	100,0
Fêmeas	40	20,0 ^a	160	80,0 ^a	200	100,0
Total	53	17,7	246	82,3	299	100,0

O valor calculado do χ^2 para os dados referidos na Tabela 4 foi igual a 2,13, tendo sido não significante para o nível de confiabilidade de 95% adotado e para 1 grau de liberdade.

A freqüência dos títulos de anticorpos está discriminada na Tabela 5 e a visualização global dos resultados está na Figura 2.

TABELA 5. Freqüência da distribuição de títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo o sexo.

Título / Sexo	Negativo	1:2	1:4	1:8	Nº Total de Amostras
Machos	86	7	2	4	99
Fêmeas	160	13	4	23	200
Total	246	20	6	27	299

O valor calculado do χ^2 para os dados referidos na Tabela 5 foi igual a 4,48, tendo sido não significante para o nível de confiabilidade de 95% adotado e para 3 graus de liberdade.

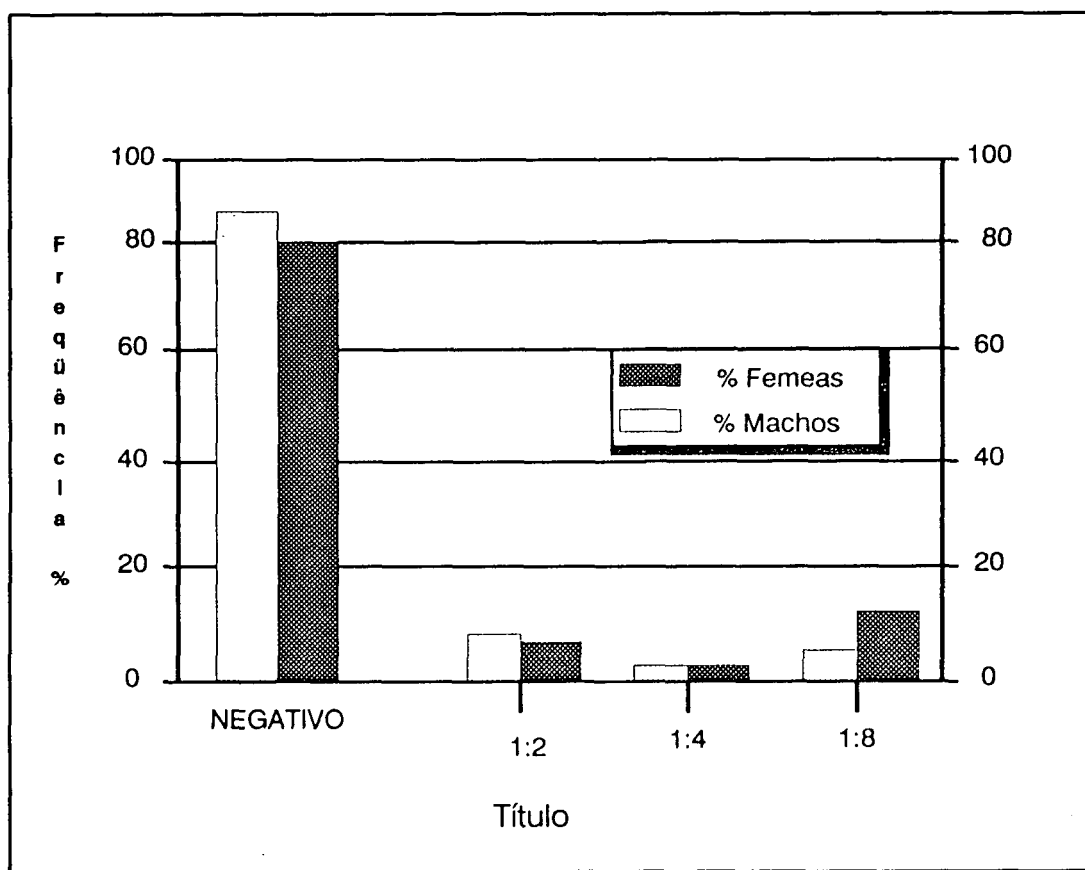


FIGURA 2. Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo o sexo.

4.2.3. Análise dos resultados da prova de soroneutralização para Herpesvírus eqüino tipo 1, segundo a raça dos eqüinos estudados

Os resultados dos soros estudados, considerando-se a raça dos eqüinos testados nesta pesquisa, estão expressos na Tabela 6.

TABELA 6. Resultado da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soros sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a raça.

Resultado / Raça dos Eqüinos	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Puro Sangue Inglês	44	19,5 ^a	182	80,5 ^a	226	100,0
Raças para Hipismo*	3	7,1 ^a	39	92,9 ^a	42	100,0
Árabe	1	5,0 ^a	19	95,0 ^a	20	100,0
Mestiços	5	45,5 ^b	6	54,5 ^b	11	100,0
Total	53	17,7	246	82,3	299	100,0

* Raças para Hipismo: Brasileiro de Hipismo, Hanoveriano, Westphalen e Reitpony.

O valor calculado do χ^2 para os resultados apresentados na Tabela 6 foi igual a 11,71, tendo sido, estatisticamente, significativo para o nível de confiabilidade de 95% adotado e com 3 graus de liberdade.

O único grupo que diferiu dos demais estatisticamente foi o dos mestiços.

A frequência dos títulos obtidos nas amostras está representada na Tabela 7.

TABELA 7. Frequência da distribuição de títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a raça.

Título / Raça dos Eqüinos	Negativo	1:2	1:4	1:8	Nº Total de Amostras
Puro Sangue					
Inglês	182	16	6	22	226
Raças para Hipismo	39	2	0	1	42
Árabe	19	0	0	1	20
Mestiços	6	2	0	3	11
Total	246	20	6	27	299

O valor calculado do χ^2 para os resultados apresentados na Tabela 7 foi igual a 14,37, não sendo, estatisticamente, significativo para o nível de confiabilidade de 95% adotado e com 9 graus de liberdade.

Para melhor visualização dos resultados, estes foram expressos na Figura 3.

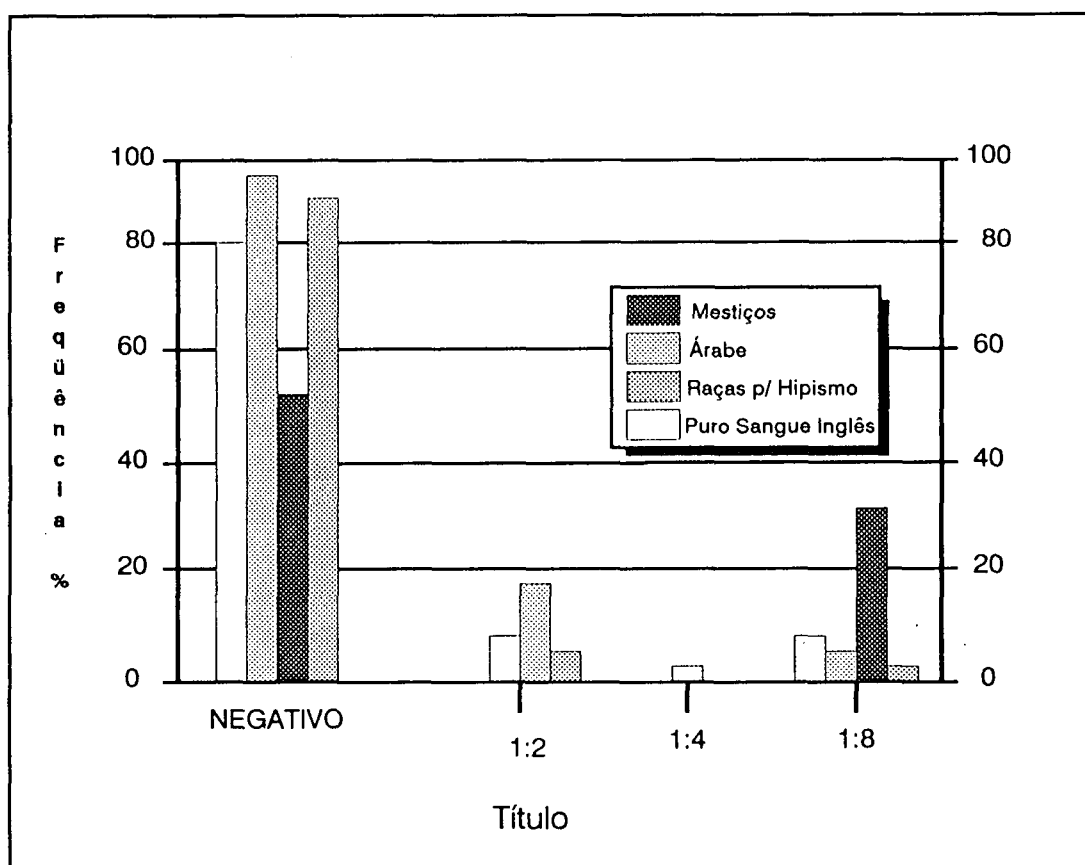


FIGURA 3. Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soros sanguíneos de eqüinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo a raça.

4.2.4. Análise dos resultados da prova de soroneutralização para Herpesvírus eqüino tipo 1, segundo a faixa etária.

Os resultados obtidos pelas provas de soroneutralização para EHV-1 nos soros sanguíneos dos eqüinos estudados, considerando-se a faixa etária, foram agrupados na Tabela 8 e a magnitude dos títulos verificados nos animais soropositivos apresentados na Tabela 9. Para melhor visualização, os resultados foram, também, distribuídos na Figura 4.

TABELA 8. Resultados da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a faixa etária.

Resultado / Faixa Etária	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
1	1	3,1 ^b	31	96,9 ^b	32	100,0
2	4	4,9 ^c	78	95,1 ^c	82	100,0
3	8	17,4 ^d	38	82,6 ^d	46	100,0
4	10	35,7 ^e	18	64,3 ^e	28	100,0
5	30	27,0 ^a	81	73,0 ^a	111	100,0
Total	53	17,7	246	82,3	229	100,0

O valor calculado do χ^2 para os resultados apresentados na Tabela 8 foi igual a 26,77, sendo, estatisticamente, significativo para o nível de confiabilidade de 95% adotado e com 4 graus de liberdade.

TABELA 9. Freqüência da distribuição de títulos anticorpos anti EHV-1 em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a faixa etária.

Título/ Faixa Etária	Negativo	1:2	1:4	1:8	Nº Total de Amostras
1	31	1	0	0	32
2	78	2	1	1	82
3	37	3	0	6	46
4	18	3	3	4	28
5	82	11	2	16	111
Total	246	20	6	27	299

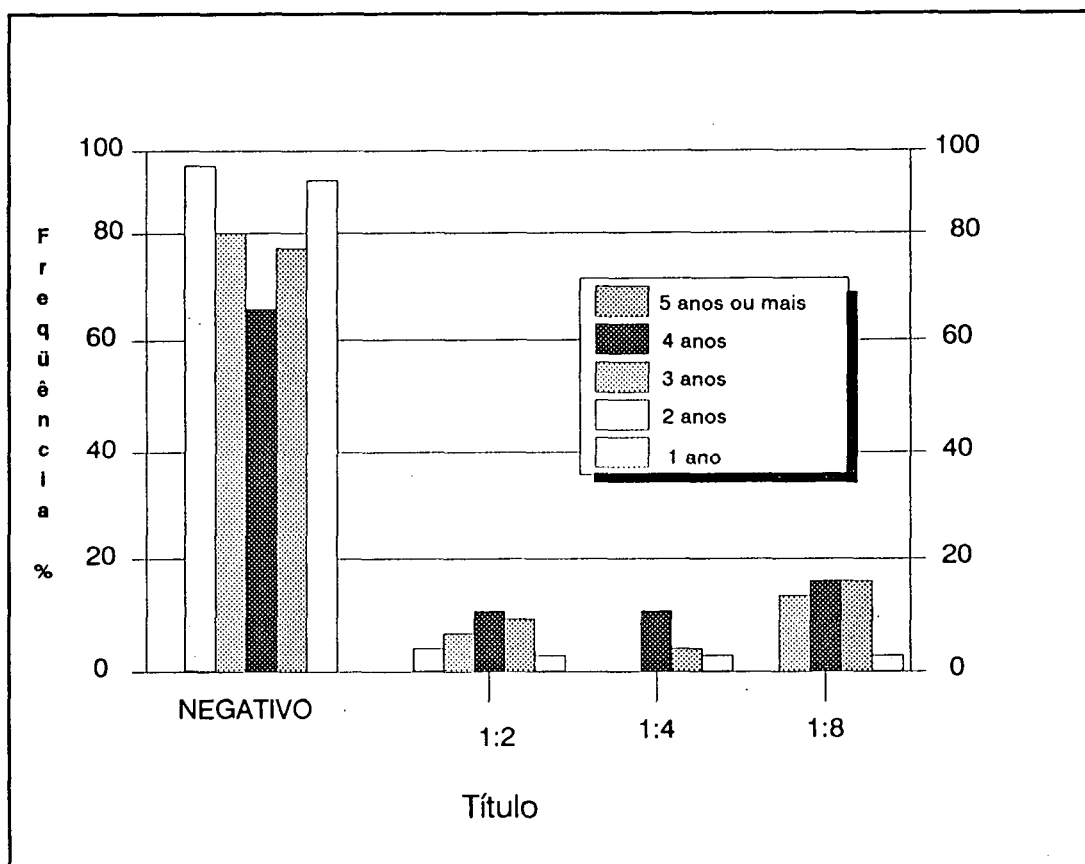


FIGURA 4. Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soros sanguíneos de eqüinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo a faixa etária.

4.2.5. Análise dos resultados da prova de soroneutralização para Herpesvírus eqüino tipo 1, segundo a procedência dos eqüinos estudados.

Os resultados para a reação de soroneutralização obtidos nas amostras de soro sanguíneo dos eqüinos estudados, considerando-se a procedência dos animais, foram agrupados na Tabela 10, sendo a frequência dos títulos dos animais apresentada na Tabela 11. Para melhor visualização, os referidos resultados foram distribuídos na Figura 5.

TABELA 10. Resultados da prova de soroneutralização para o EHV-1, em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a procedência.

Resultado / Procedência	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Haras	34	19,0 ^a	145	81,0 ^a	179	100,0
Jockey Club	19	18,8 ^a	101	84,2 ^a	120	100,0
Total	53	17,7	246	82,3	299	100,0

O valor calculado do χ^2 para os resultados apresentados na Tabela 10, foi igual a 0,48, não sendo, estatisticamente, significativo para o nível de confiabilidade de 95% adotado e com 1 grau de liberdade.

TABELA 11. Frequência da distribuição de títulos anticorpos anti EHV-1 em soro sanguíneo de eqüinos criados na região de Curitiba, agrupados segundo a procedência.

Título/ Procedência	Negativo	1:2	1:4	1:8	Nº Total de Amostras
Haras	145	13	3	18	179
Jockey Club	101	7	3	9	120
Total	246	20	6	27	299

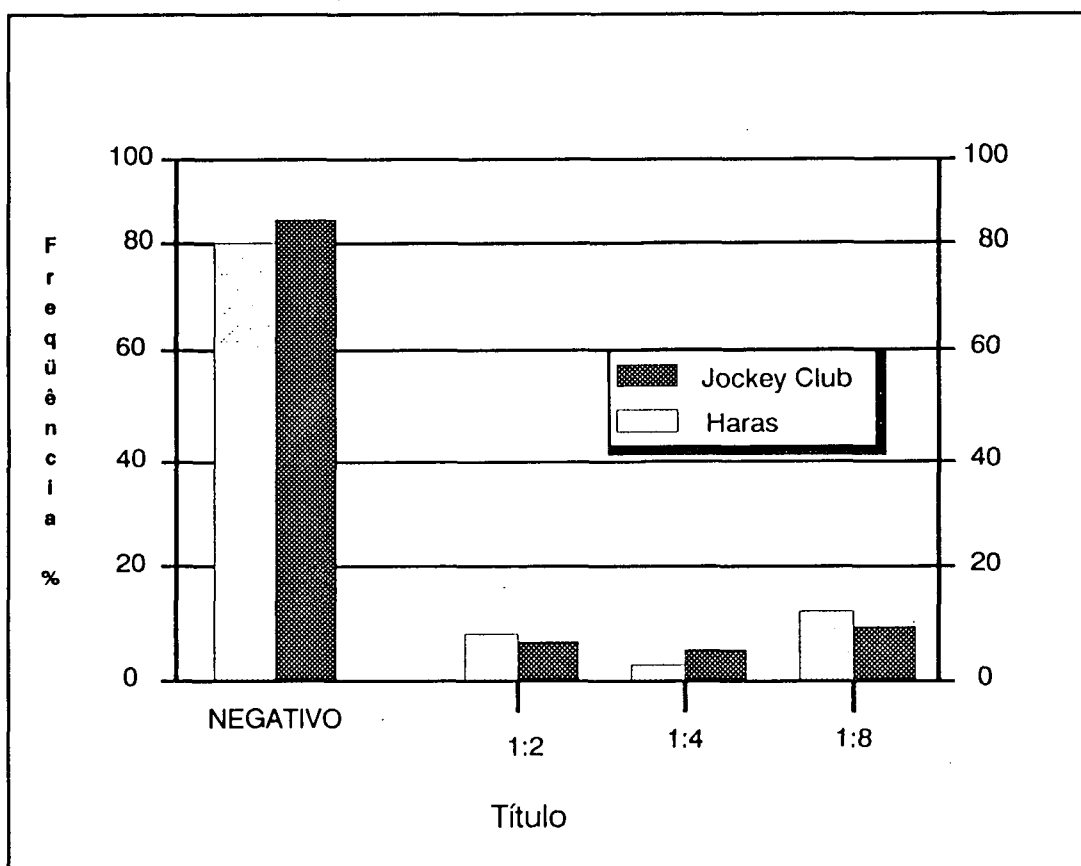


FIGURA 5. Frequência dos títulos de anticorpos anti EHV-1, em soro sanguíneo de equinos criados na região de Curitiba, distribuídos segundo a procedência.

4.3. Índice de abortos

Durante os anos de 1989, 1990 e 1991 foram acompanhadas 674 gestações, das quais 62 resultaram em aborto, o que equivale a 9,2%.

Foram examinados 50 casos de aborto, sendo que em 23 a causa foi determinada, conforme se nota pelos resultados agrupados na Tabela 12.

TABELA 12. Causas de aborto eqüino.

ETIOLOGIA	Nº CASOS	%
NÃO IDENTIFICADA*	27	54
BACTERIANA	17	34
VIRAL (EHV-1)	4	8
GESTAÇÃO GEMELAR	2	4
TOTAL	50	100

**Incluindo casos de autólise avançada, em que não foi coletado material para bacteriologia e virologia.*

4.4. Incidência de abortos por propriedade

As propriedades que apresentavam um número mínimo de 25 éguas gestantes por ano, foram avaliadas individualmente e verificou-se uma variação de 2 a 25% na incidência de abortos por propriedade, em relação ao número de éguas gestantes.

4.5. Idade média das éguas que abortaram

Analisou-se a idade de 52 éguas no momento do aborto e obteve-se uma média de 8,25 anos.

4.6. Abortos gemelares

Foram analisados 132 casos de aborto, dos quais 6 foram gemelares, o que equivale a 4,5%. Ocorreram, nos seguintes meses de gestação, 5º, 6º, 7º, 8º e 10º (2 casos).

4.7. Isolamento do Herpesvírus eqüino tipo 1

O material de 21 fetos foi processado com o intuito de isolar-se o Herpesvírus eqüino tipo 1, obtendo-se o isolamento em 4 casos, através da utilização da técnica de inoculação em cultivo celular da linhagem VERO e de provas de imunofluorescência. Com relação ao período de gestação, estes abortos ocorreram no 5º, 6º, 8º e 9º mês.

Os títulos da soroneutralização de 17 éguas no dia do aborto e sua relação com o resultado virológico estão expressos na Tabela 13.

TABELA 13. Títulos da soroneutralização de éguas no dia do aborto e sua relação com o isolamento viral.

Nº CASOS	TÍTULO PARA O EHV-1	ISOLAMENTO VIRAL (EHV-1)
5	NEGATIVO	NEGATIVO
1	NEGATIVO	POSITIVO
1	1:2	NEGATIVO
3	1:2	POSITIVO
6	1:8	NEGATIVO
1	1:256	NEGATIVO

4.8. Bactérias isoladas dos fetos abortados

Foram processados para bacteriologia um total de 38 fetos, dos quais 17 foram considerados positivos.

Os critérios adotados para considerar-se um feto, bacteriologicamente, positivo foram aqueles sugeridos por ROSSDALE & RICKETTS (1976).

As bactérias isoladas dos casos positivos estão descritas na Tabela 14.

TABELA 14. Casos de abortos de origem bacteriana.

AGENTE	Nº CASOS	%
<i>Streptococcus</i> spp. β - hemolítico	3	17,6
<i>Streptococcus</i> spp. α - hemolítico	1	5,9
<i>Streptococcus</i> spp. não hemolítico	1	5,9
<i>Escherichia coli</i>	2	11,8
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	11,8
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	11,8
<i>Klebsiella</i> spp.	2	11,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	5,9
<i>Actinobacillus equuli</i>	1	5,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	5,9
<i>Bacillus</i> spp.	1	5,9
TOTAL	17	100,0

4.9. Incidência mensal dos casos de aborto

Para melhor visualização, os resultados da frequência de abortos em relação ao mês do ano, foram distribuídos na Figura 6.

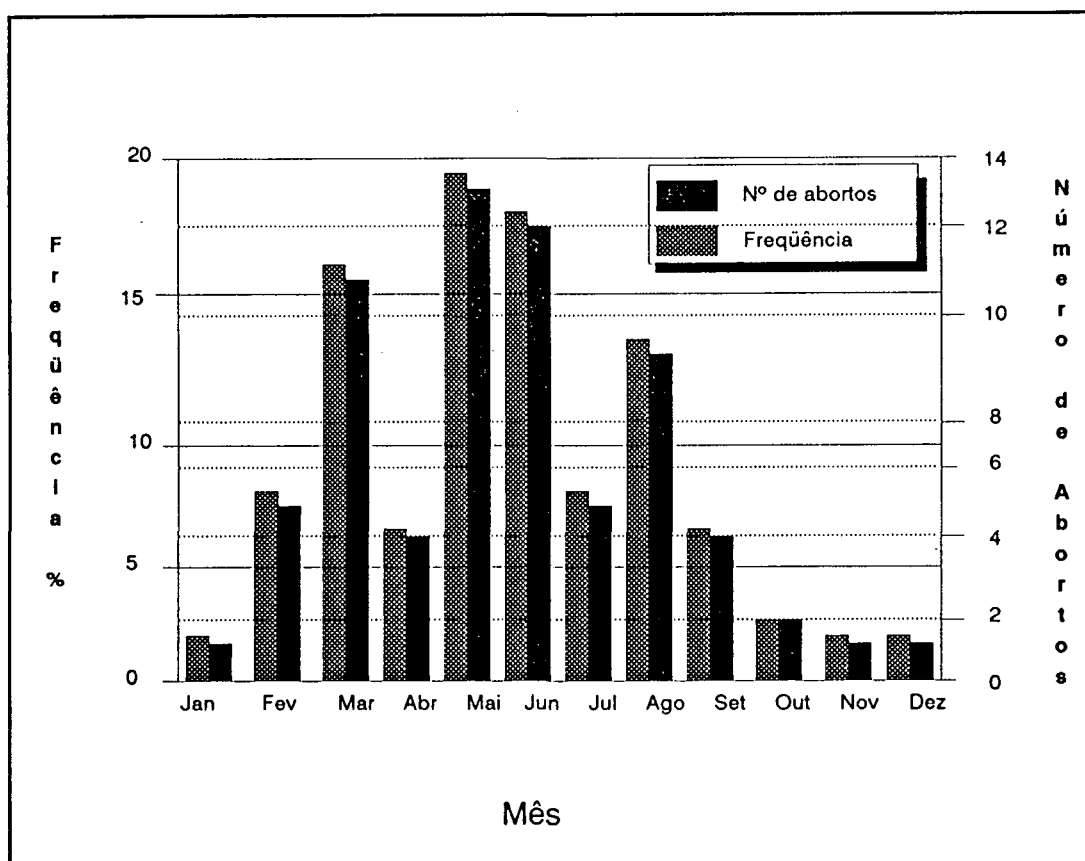


FIGURA 6. Frequência de abortos em relação ao mês do ano.

4.10. Incidência dos casos de aborto segundo o período de gestação

Para melhor visualização, os resultados da frequência de abortos em relação ao período de gestação, foram distribuídos na Figura 7.

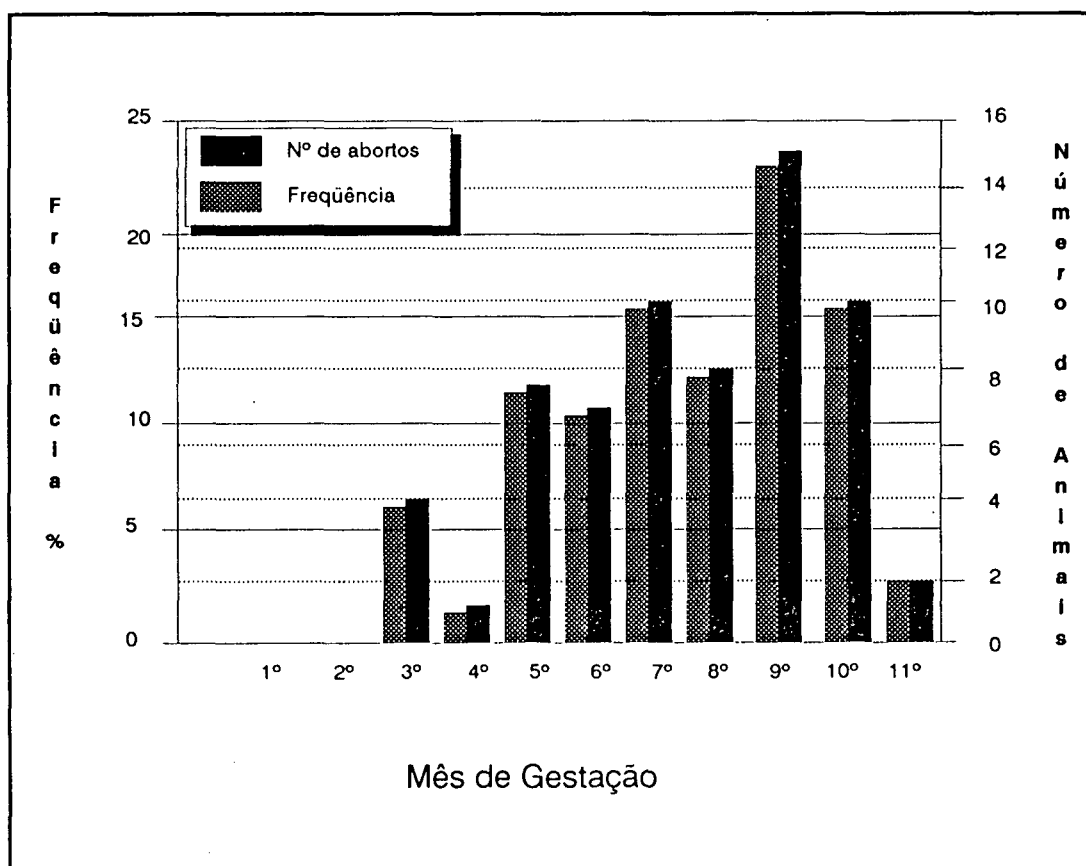


FIGURA 7. Frequência de abortos em relação ao período de gestação

4.11. Exame histológico

As alterações encontradas no exame histológico dos casos de aborto estão resumidas a seguir:

Casos de origem bacteriana

Placenta: edema, hiperemia, infiltração por polimorfonucleares, dilatações císticas, placentite

purulenta.

Fígado: hiperemia acentuada, autólise, fibrose periductal nos espaços porta com infiltração por polimorfonucleares.

Intestino: edema na submucosa, algumas vezes com infiltração leucocitária.

Casos de origem viral (Herpesvírus eqüino tipo 1)

Fígado: desarranjo e tumefação das trabéculas hepáticas, leve megalocitose, infiltração por monomorfonucleares e raros polimorfonucleares.

Rins: edema intersticial.

Pulmão: hiperemia intensa.

Placenta: infiltração por monomorfonucleares e polimorfonucleares, placentite subaguda.

Cordão umbilical: onfaloflebite aguda com infiltração eosinofílica e presença de alguns neutrófilos.

Observações:

- a) Estas alterações não estavam presentes em todos os casos, mas, sim, representam um compilado das alterações encontradas com relativa frequência; e
- b) o exame histológico foi algumas vezes prejudicado por certo grau de autólise intra ou extra-uterina.

5. DISCUSSÃO

De acordo com dados divulgados na imprensa leiga, existe atualmente em nosso país uma população estimada de 6 milhões de animais, distribuídos entre 560 mil proprietários e gerando em torno de 140 mil empregos diretos. A importância do conhecimento das causas de aborto eqüino e de uma metodologia apropriada para seu diagnóstico está enfatizada em uma série de trabalhos científicos e observa-se agora, no Brasil, um interesse crescente neste assunto.

A análise dos resultados do presente trabalho está descrita a seguir:

Sorologia para leptospirose

Investigações sorológicas têm indicado que a exposição de eqüinos à infecção por leptospirosas está mundialmente difundida. Os sorogrupos predominantes têm variado com o país pesquisado e com os sorovares utilizados como antígenos. Na Irlanda, foram encontrados anticorpos para os sorogrupos Australis (sorovar *bratislava*), Icterohaemorrhagiae, Pyrogens, Sejroe (sorovar *hadjo*, Ballum, Canicola e Autumnalis (ELLIS et al., 1983a; EGAN & YEARSLEY, 1986). Foram isoladas, também na Irlanda, cepas pertencentes aos grupos Australis, Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Autumnalis e Pomona (ELLIS et al., 1983a,b).

No Brasil, CORRÊA et al. (1957) pesquisando anticorpos nos soros de 118 cavalos, encontraram 20 com relações positivas para diferentes espécies de leptospirosas.

Os resultados encontrados no presente trabalho foram bastante próximos aos descritos na literatura, bem como sugerem a provável participação da *Leptospira* spp. em casos de aborto na região.

Apenas com relação ao sorogrupo Pomona, que é o mais comumente incriminado em casos de icterícia e aborto em eqüinos, e altas prevalências sorológicas têm sido relatadas em muitas partes do mundo, não foram identificados anticorpos para este sorogrupo nesta investigação. Porém, os resultados do presente trabalho concordam com os de ELLIS et al. (1983a) e de EGAN & YEARSLEY (1986) que também não encontraram anticorpos para o sorogrupo Pomona na Irlanda do Norte e na

República da Irlanda, respectivamente.

A maior prevalência do sorovar *Icterohaemorrhagiae* pode ser justificada pela freqüente presença de roedores nas criações de eqüinos. No Brasil, GIORGI et al. (1981) isolaram *Leptospira icterohaemorrhagiae* de um feto abortado.

A urina de animais infectados de várias espécies parece ser a principal fonte de contaminação. Os animais afetados, inclusive eqüinos, eliminam a *Leptospira* na urina durante vários meses após a exposição e podem atuar como portadores da doença (SWERCZEK, 1991d).

Na maioria dos casos, os animais soropositivos não apresentaram sinais clínicos, o que corresponde ao descrito por SWERCZEK (1991d).

Sorologia para o Herpesvírus eqüino tipo 1

A prova de soroneutralização utilizada nesta pesquisa tem sido considerada de alta especificidade (BAGUST, 1971) e alta sensibilidade (DOLL & BRYANS, 1962b; McGUIRRE et al., 1974).

DOLL & BRYANS (1962b) ao compararem as provas de soroneutralização e fixação de complemento, observaram que os títulos da fixação de complemento declinam com maior rapidez do que os da soroneutralização.

A freqüência encontrada de eqüinos com anticorpos anti Herpesvírus eqüino tipo 1, equivalente a 17,7%, assemelha-se à encontrada por MODULO et al. (1989), que encontraram 17,6% trabalhando com eqüinos da região noroeste do Estado de São Paulo, através da prova de fixação de complemento. Porém, foi significativamente inferior ao percentual observado por VARGAS (1989) no Estado do Rio Grande do Sul (84,7%) e também ao percentual observado por FERNANDES (1988) no Estado de São Paulo (57,3%) em animais não vacinados.

Na análise dos resultados segundo o sexo dos animais, observou-se não haver diferença, estatisticamente, significativa para os índices de soropositividade, o que concorda com os resultados obtidos por FERNANDES (1988).

Ao avaliar-se a influência das raças, não encontrou-se diferença, estatisticamente significativa entre as estudadas (Puro Sangue Inglês, Raças para Hipismo e Árabe), o que corrobora os resultados referidos por PENSAERT et al. (1973, apud FERNANDES, 1988).

Com relação aos resultados segundo a faixa etária, foram observadas diferenças, estatisticamente significantes, o que não foi observado por FERNANDES (1988).

Na análise dos resultados segundo a procedência dos animais (haras ou Jockey Club), não

encontrou-se diferença, estatisticamente, significativa nos resultados da prova de soroneutralização.

Em resumo, pode-se dizer que foram encontrados resultados, estatisticamente significativos apenas com relação à faixa etária; enquanto que as variantes sexo, raça e procedência dos animais não apresentaram resultados, estatisticamente significativos.

Não foram verificadas manifestações clínicas da infecção pelo Herpesvírus eqüino tipo 1 na maioria dos animais soropositivos, o que concorda com as observações de SUGIURA et al. (1988), sobre o caráter subclínico da doença.

A existência de anticorpos soroneutralizantes contra o Herpesvírus eqüino tipo 1 em animais não vacinados, demonstrou claramente que estes sofreram exposição ao vírus e, portanto, a existência do referido vírus na população estudada.

Índice de abortos

O valor encontrado de 9,2% foi bastante próximo aos valores descritos na literatura.

Trabalhos prévios de BAIN (1969), DU PLESSIS (1964) e SULLIVAN et al. (1975) têm indicado perdas na gestação após 45 dias variando de 11 a 19%.

Incidência mensal dos casos de aborto

Os meses em que foi observada maior incidência de casos de aborto (março à agosto), correspondem aos meses em que as éguas apresentam-se no terço final da gestação, em decorrência da estação de monta definida para a raça Puro Sangue Inglês, que compreende o período de 15 de agosto a 15 de janeiro.

Incidência dos casos de aborto segundo o período de gestação

Na análise do período de gestação (terço final), que apresentou maior incidência de casos de aborto, verificou-se que coincide com o citado por MACRUZ (1991), em fetos examinados no Jockey Club de São Paulo e no Instituto Biológico de São Paulo.

Abortos gemelares

De 132 casos de aborto, 6 foram gemelares, o que corresponde a 4,5%. Considerando a taxa encontrada de abortos de 9,2%, o percentual encontrado de éguas prenhes que abortam gêmeos foi de 0,4%.

A literatura consultada (SWERCZEK, 1991b) afirma que entre 0,5 a 1% das éguas Puro Sangue Inglês abortam gêmeos, ou, raramente, ambos vivos a termo. Os abortos gemelares geralmente são observados após o 8º mês de gestação, apesar que já foram descritos casos com 88 dias (JEFFCOTT & WHITWELL, 1974; WHITWELL, 1980).

Isolamento do Herpesvírus eqüino tipo 1

Os quatro casos de isolamento do Herpesvírus eqüino tipo 1, a partir de órgãos fetais, vieram a comprovar o que já havia sido postulado através do exame sorológico, ou seja, a existência do referido vírus na população estudada e sua participação como agente etiológico de abortos.

Bactérias isoladas dos fetos abordados

Verificou-se que as bactérias isoladas nesta pesquisa nos casos de aborto de origem bacteriana, correspondem a aquelas comumente citadas na literatura (ACLAND, 1987; MAHAFFEY, 1968; PRICKETT, 1970; LANGFORD, 1974; DIMOCK et al., 1947).

Sugestões

Com o objetivo de evitar-se, tanto quanto possível, os casos de aborto eqüino, são propostas as seguintes sugestões:

- a) Todo caso de aborto deve ser considerado como uma possível fonte de infecção;
- b) o feto e a placenta, após a necrópsia e coleta de material, devem ser incinerados e, se possível, enterrados;
- c) as áreas de cocheira contaminadas por sangue ou fluidos fetais devem ser desinfetadas e a cama incinerada;

- d) o posterior da égua deve ser limpo com uma solução desinfetante;
- e) a égua que abortou deve ser isolada das outras éguas prenhes. O contato indireto, seja através de pessoal ou utensílios, deve ser evitado;
- f) a introdução de novos animais no grupo de éguas prenhes deve ser evitada;
- g) os exames vaginais e cervicais devem ser feitos com espéculo tubular que possua o menor diâmetro possível. Com relação a esta sugestão cita-se como exemplo o trabalho de MAHAFFEY (1968) onde afirma nunca ter encontrado aborto fúngico em pôneis que nunca foram submetidas a exames ginecológicos;
- h) atentar para as condições básicas de nutrição, manejo e sanidade; e, finalmente,
- i) a metodologia utilizada neste trabalho poderá servir como referência na investigação dos casos de aborto eqüino e no aprimoramento das técnicas de diagnóstico.

6. SUMÁRIO

Para a investigação das causas de aborto eqüino na região de Curitiba, realizou-se a coleta e processamento do material de casos de aborto para bacteriologia, virologia e histologia; uma investigação sorológica para leptospirose e para o Herpesvírus eqüino tipo 1 e um levantamento estatístico geral dos casos de aborto.

Na investigação sorológica para leptospirose, de 145 amostras testadas, 15,9% apresentaram reação contra um ou mais sorovares, com predomínio do sorovar *icterohaemorrhagiae*.

Com o objetivo de determinar o grau de exposição do rebanho ao Herpesvírus eqüino tipo 1, através da técnica de soroneutralização, foram coletadas 299 amostras de soro sanguíneo, de animais não vacinados contra rinopneumonite, das quais 17,7% apresentaram anticorpos para o referido vírus. Não foram encontradas diferenças, estatisticamente, significantes com relação à soropositividade entre os animais agrupados segundo o sexo, raça ou procedência. Apenas com relação à faixa etária, observou-se que os animais de 1 a 4 anos apresentaram índices de soropositividade crescentes a cada ano.

Durante os anos de 1989, 1990 e 1991 foram acompanhadas 674 gestações, das quais 9,2% resultaram em aborto.

Com relação a abortos gemelares, verificou-se um índice de 4,5% em um total de 132 casos analisados.

O material de 21 fetos foi processado com o intuito de isolar-se o Herpesvírus eqüino tipo 1, obtendo-se o isolamento em 4 casos (19,0%).

Foram examinados para bacteriologia um total de 38 fetos, dos quais 44,7% foram considerados bacteriologicamente positivos. As bactérias isoladas com maior freqüência foram: *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp. e *Staphylococcus* spp..

7. ABSTRACT

This research was undertaken with the aim of establishing the main causes of equine abortion in the Curitiba area. It has been established that during the period of 1989-1991 occurred a total of 9.2 per cent abortions among 674 gestations studied. From 50 aborted fetuses, different biological material was collected for bacteriology, virus and histopathology analysis. Furthermore, a serological survey for leptospirosis was carried out in 145 animals, and for equine herpesvirus type 1 (EHV-1) in 299.

All equines studied were from both sexes and from different ages, beginning with 1 - year - old animals.

In both cases, mares with a history of abortion were included. It has been found for leptospirosis, a total of 15.9 per cent of sera that reacted against one or more serovars, with predominance for the *icterohaemorrhagiae* serovar. From the total of 145 animals studied, 59 (40.7 per cent) were mares displaying a history of abortion, 20 (33.9 per cent) of these animals being serum positive for leptospirosis. From the total of 299 animals studied, 17.7 per cent were positive for equine herpesvirus type 1 antibodies, which were studied by means of the serum neutralization test. These data were analysed in regard to the age, sex, breed and the animals environment. It was observed that animals from 1 to 4 - years - old, displayed increasing tendency for serum positivity.

A total of 4.5 per cent of twin abortions were observed among 132 cases of abortions studied.

The equine herpesvirus type 1 has been succesfully isolated from 4 cases, among 21 fetuses studied. On the other hand, 44.7 per cent from 38 fetuses studied were considered bacteriologically positive. The most frequent bacteria recorded were *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus* spp..

8. CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados do presente trabalho e levando-se em consideração a região envolvida e a metodologia descrita, podem ser formuladas as seguintes conclusões:

- 1) A presença de anticorpos anti Herpesvírus eqüino tipo 1 em animais não vacinados comprova a existência do referido vírus na população estudada.
- 2) Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes para a soropositividade ao Herpesvírus eqüino tipo 1, considerando o sexo e a raça dos animais.
- 3) A sorologia para a leptospirose revelou a incidência de animais soropositivos (15,9%), bem como os sorovares que aparecem com maior frequência.
- 4) 44,7% dos casos processados para bacteriologia resultaram positivos. A relação de bactérias isoladas admite a avaliação da importância das mesmas como agente etiológico de abortos.
- 5) 19,0% dos casos processados para virologia resultaram positivos. Os casos de isolamento do Herpesvírus eqüino tipo 1, a partir de órgãos fetais, vieram a comprovar sua participação como agente etiológico de abortos na população estudada.
- 6) Os abortos gemelares apresentaram uma incidência de 4,5% em relação aos casos de aborto.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACLAND, H.M. (1987) Abortion in mares: diagnosis and prevention. Compendium Equine 9 (3): 318-324.
2. ALLEN, W.R. (1984) Is your progesterone therapy really necessary? Equine Vet. J. 26 (6): 496-498.
3. ALLEN, G.P. & BRYANS, J.T. (1986) Molecular epizootology, pathogenesis, and prophylaxis of equine herpesvirus - 1 infections. Prog. Vet. Microbiol. Immun. 2: 78-144.
4. BAGUST, T.J. (1971) The equine herpesvirus. Vet. Bull. 41 (2): 79-92.
5. BAIN, A.M. (1969) Foetal losses during pregnancy in the Thoroughbred mare: a record of 2.562 pregnancies. N. Z. Vet. 17: 155-158.
6. BRYANS, J.T. (1972) Bacterial and spirochetal diseases. In (E.J. CATCOTT, J.F. SMITHCORS, Editores) Equine Medicine and Surgery, 2^a ed. Evanston, Illinois, American Veterinary Publication, pp. 79-85.
7. BRYANS, J.T. (1978) Immunization of pregnant mares with an inactivated equine herpesvirus 1 vaccine. In "Proc. 4th int. Conf. Equine infect. Dis., Lyon, 1976" (J.T. BRYANS & GERBER, Editores), Vet. Publ. Inc., Princeton, New Jersey, pp. 83-92.
8. BRYANS, J.T. & ALLEN, G.P. (1986) Equine viral rhinopneumonitis. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 5 (4): 837-847.
9. BURGESS, E.C. et al. (1987) Foal mortality associated with natural infection of pregnant mares with Borrelia burgdorferi. Proc. Intl. Conf. Eq. Infect. Dis., University Press of Kentucky, Lexington, pp. 217-220.
10. BURROWS, R. & GOODRIDGE, D. (1979) Equid herpesvirus 1 (EHV-1): some observations on the epizootology of infection and on the innocuity testing of live virus vaccines. Proc. 24th ann. Conf. Am. Ass. Equine Pract., 1978: 17-29.

11. CAMARGO, M.E. (1973) Introdução às técnicas de imunofluorescência. Instituto de Medicina Tropical, São Paulo, 114 pp.
12. CAMPBELL, T.M. & STUDDERT, M.J. (1983) Equine herpesvirus type 1 (EHV-1). The Veterinary Bulletin **53** (2): 135-146.
13. COIGNOUL, F.L. & CHEVILLE, N.F. (1984) Pathology of material genital tract, placenta, and fetus in equine viral arteritis. Vet. Pathol. **21**: 333-340.
14. CORRÊA, M.O.A.; NETO, V.A.; VERONESI, R. & FABBRI, O.S. (1957) Leptospirosis em eqüinos: inquérito sorológico. Rev. Inst. Lutz **15**: 186.
15. CORRÊA, F.R. (1990) Abortos de origem tóxica. Palestra proferida no I Simpósio de Clínica Veterinária Eqüina. Curitiba, PR.
16. CRANDELL, R.A.; DRYSDALE, S. & STEIN, T.L. (1979) A comparative study of bovine herpesvirus 1247 and equine herpesvirus I in ponies. Can. J. Comp. Med. **43**: 94-97.
17. DIMOCK, W.W & EDWARDS, P.R. (1933) Is there a filtrable virus of abortion in mares? Kentucky Agriculture Experimental Station Bulletin - Supp.: 333.
18. DIMOCK, W.W.; EDWARDS, P.R. & BRUNNER, D.W. (1947) Infections of fetuses and foals. Bull. Ky. agric. Exp. Stn.: 509.
19. DOLL, E.T.; BRYANS, J.T.; McCOLLUM, W.H. & CROWE, M.E.W. (1957) Isolation of filterable agent causing arteritis of horses and abortion of mares. Its differentiation from the equine abortion (influenza) virus. Cornell Vet. **47**: 3-41.
20. DOLL, E.R. & BRYANS, J.T. (1962a) Incubation periods for abortion in equine viral rhinopneumonitis. J. Am. vet. med. Ass. **141**: 351-354.
21. DOLL, E.R. & BRYANS, J.T. (1962b) Development of complement fixing and virus neutralizing antibodies in viral rhinopneumonitis of horses. Am. J. Vet. Res. **23** (95): 843-846.
22. DOLL, E.R. BRYANS, J.T. (1963) Epizootiology of equine viral rhnopneumonitis. J. Am. vet. med. Ass. **142**: 31.
23. DU PLESSIS, J.L. (1964) Some observations and data in Thoroughbred breeding. J. So. Afr. Vet. Med. Assoc. **35**: 215-221.
24. DUTRA, M.J. (1974) Incidência de leptospirose em suínos no Paraná. Arq. Biol. Tecnol. **17**: 70-74.

25. EDDINGTON, N. & BRIDGES, C.G. (1985) Experimental reactivation of equid herpesvirus 1 (EHV-1) following the administration of corticosteroids. Eg. Vet. J. 17: 369-371.
26. EGAN, J. & YEARSLEY, D. (1986) A serological survey of leptospiral infection in horses in the Republic of Ireland. Vet. Rec. 119: 306.
27. ELLIS, W.A.; O'BRIEN, J.J.; CASSELS, J.A. & MONTGOMERY, J. (1983a) Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: serological and microbiological findings.. Equine Vet. J. 15: 317-320.
28. ELLIS, W.A.; BRYSON, D.G.; O'BRIEN, J.J. & NEILL, S.D. (1983b) Leptospiral infection in aborted equine fetuses. Equine Vet. J. 15: 321-324.
29. ELLIS, W.A. & O'BRIEN, J.J. (1988) Leptospirosis in horses. In (D.G. POWELL, Editor) *Equine Infectious Diseases V: Proceedings of the Fifth International Conference*. University Press of Kentucky, pp. 168-171.
30. FERNANDES, W.R. (1988) Determinação da infecção por Herpesvírus eqüino tipo 1 em animais criados no Estado de São Paulo, através da reação de fixação de complemento. Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.
31. FITZPATRICK, D.R. & STUDDERT, M.J. (1984) Immunologic relationships between equine herpesvirus type 1 (equine abortion virus) and type 4 (equine rhinopneumonitis virus). AJVR 45: 1947-1952.
32. FREITAS, D.C.; GOMES, C.E.S. & LACERDA, J.P.G. (1958) Leptospirose eqüina. Comunicação à Sociedade Paulista de Medicina Veterinária - Reunião de 30/05/58.
33. GALTON, M.M. et al. (1962) Leptospirosis; epidemiology, clinical manifestations in man and animals and methods in laboratory diagnosis. Department of Health, Education and Welfare. Public Health Service (PHS publication nº 951), Atlanta, 70 pp.
34. GINTHER, O.J. (1989) Twin equine embryos. Proc. Annu. Mtg., Soc. for Therio: 143-149.
35. GIORGI, W.; TERUYA, J.M.; MACRUZ, R.; GENOVEZ, M.E.; SILVA, A.S. & BORGIO, F. (1981) Serological survey for equine leptospirosis and the isolation of *Leptospira icterohaemorrhagiae* from an aborted fetus. Biológico 47: 47-53.

36. HARTLEY, W.J. & DIXON, R.J. (1979) An outbreak of foal perinatal mortality due to equid herpesvirus type 1: pathological observations. Equine vet. J. 11: 215-218.
37. HONG, C.B. & DONAHUE, J.M. (1989) Campylobacteriosis in an aborted equine fetus. JAVMA. 194: 263-264.
38. HUGHES, J.P. & DAELS, P.F. (1991) Non-infectious causes of abortion in the mare. Rev. Bras. Reprod. Anim. Supl. Anais do IX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Vol. I (3): 172-179.
39. JACKSON, R.S.; JONES, E.E. & CLARK, D.S. (1957) Abortion in mares associated with Leptospirosis. J. Am. vet. med. Ass. 131: 564.
40. JACKSON, T.A. et al. (1977) Equine herpesvirus 1 infection of horses: studies on the experimentally-induced neurologic disease. AJVR 38: 709-719.
41. JEFFCOTT, L.B. & WHITWELL, K.E. (1974) Twinning as a cause of fetal and neonatal loss in the Thoroughbred mare. J. comp. Path. 83: 91-106.
42. KENNEY, R.M. (1978) Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embrionic death. J. A. V. M. A. 172: 241-262.
43. KOTAIT, I.; PEIXOTO, Z.M.P.; QUEIROZ, L.H. et al. (1989) Diagnóstico laboratorial do aborto eqüino a vírus através de imunofluorescência e soroneutralização. Rev. Microbiol. 20 (1): 128-132.
44. LANGFORD, E.V. (1974) Isolation of Mycoplasma bovigenitalium from an aborted equine foetus. Vet. Rec. 94: 528.
45. LANGHAM, F.; BENEKE, E.S.; & WHITENACK, D.L. (1977) Abortion in a mare due to coccidiomycosis. J. A. V. M. A. 170: 178.
46. LIU, I.K. (1979) Discussions on equine herpesvirus 1 and equine influenza. Proc. 24th ann. Conf. Am. Ass. Equine Pract., 1978: 80-88.
47. MACRUZ, R. (1991) Incidência de abortos eqüinos e diagnóstico anátomo-histológico. Anais Vol II/ IX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal - Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, pp. 91-99.
- 48.. MAHAFFEY, L.W. & ADAM, N.M. (1964) Abortions associated with mycotic lesions of the placenta in mares. J. Am. vet. med. Ass. 144: 24.

49. MAHAFFEY, L.W. & ROSSDALE, P.B. (1965) An abortion due to Allescheria boydii and general observations concerning mycotic abortions in mares. Vet. Rec. 77: 541.
50. MAHAFFEY, L.W. (1968) Abortion in mares. The Veterinary Record 15: 681-687.
51. MANNINGER, R. & CSONTOS (1941) Virusabort der Stuten. Deutscher Tierärztliche Wochenschrift 49: 105-108.
52. MC CAUGHEY, W.J. & KERR, W.R. (1967) Abortion due to brucellosis in a Thoroughbred mare. Vet. Rec. 80: 186.
53. McCOLLUM, W.H.; PRICKETT, M.E. & BRYANS, J.T. (1971) Temporal distribution of the equine arteritis virus in respiratory mucosa, tissues and body fluids of horses infected by inhalation. Res. Vet. Sci. 2: 459-464.
54. MCGUIRRE, T.C.; CRAWFORD, T.B. & HENSON, J.B. (1974) Prevalence of antibodies to herpesvirus type 1 and 2, arteritis and infectious anemia viral antigens in equine serum. Am. J. Vet. Res. 35: 181-185.
55. McNUTT, S.H. & MURRAY, C. (1924) Bacterium abortion (Bang) isolated from the fetus of an aborting mare. JAVMA 18: 215-216.
56. MODOLO, J.R.; PETZOLDT, K.; GOTTSCHALK, A.F.; MARGATHO, L.F.F.; FORLIN, W. & CARREIRA, E.L.C. (1989) Investigação sorológica do Herpesvírus equi - 1 em eqüinos pelo teste de fixação de complemento, considerações sobre seu uso na saúde do haras. A Hora Veterinária 488: 25-27.
57. MONTALI, R.J.; ALLEN, G.P. & BRYANS, J.T. (1985) Equine herpesvirus type 1 abortion in an onager and suspected herpesvirus myelitis in a zebra. J. Amer. Vet. Med. Ass. 187: 1248-1249.
58. MORTER, R.L.; WILLIAMS, R.D.; BOLTE, H. & FREEMAN, M.J. (1969) Equine leptospirosis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 155: 436-442.
59. NILSSON, M.R. & CORRÊA, W.M. (1966) Isolamento do vírus do aborto eqüino no Estado de São Paulo. Arq. Inst. Biol. 33 (2): 23-25.
60. OPS/OMS (1985) Leptospirosis; manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio. Centro Panamericano de Zoonosis, nota técnica nº 30.

61. OSLER, A.G.; STRAUSS, J.H. & MAYER, M.M. (1952) Diagnostic complement fixation. I. A method. Am. J. Syph. 36: 140-153.
- 62.. PENSAERT, M.; MEURICHY, W.; VANDEPLASSCHE, M. (1973) Rhinopneumonie (virusabortus) bij paarden in Belgie; virusisolatie en serologisch onderzoek. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 42: 144-156.
63. PRICKETT, M.E. (1970a) Abortions and placental lesions in the mare. J.A.V.M.A. 157: 1465-1470.
64. PRICKETT, M.E. (1970b) The pathology or disease caused by equine herpesvirus 1. In Proc. 2nd. Conf. Equine Inf. Dis., Paris, 1969 (J.T. BRYANS & H. GERBER, editores) Karger, Basel pp. 24-33.
65. ROSSDALE, P.D. & RICKETTS, S.W. (1976) Equine abortion. Vet. Ann. 16: 133-141.
66. ROSSDALE, P.D.. & RICKETTS, S.W. (1980) Equine Stud Farm Medicine, Lea and Febiger Publishers, p. 205.
67. ROWE, C.A. & ROMERO, C.H. (1987) Um procedimento simples para a reutilização de material plástico para culturas celulares. EMBRAPA. - CNPSA. Documentos, 13, 9 pp.
68. SIEGEL, M.R. et al (1985) Acremonium fungal endophytes of tall fescue and perennial rye grass: significance and control. Plant. Dis. 69 (2): 179-183.
69. SILVA, A.A.M. (1983) Uma nova técnica para a correção cirúrgica da pneumovagina na égua. Turf e Fomento: 247-248.
70. STUDDERT, M.J. (1974) Comparative aspects of equine herpesviruses. Cornell Vet. 64: 94-122.
71. STUDDERT, M.J. & BLACKNEY, M.H. (1979) Equine herpesviruses: on the differentiation of respiratory from foetal strains of type 1. Aust. Vet. J. 55: 488-492.
72. SUGIURA, T.; MATSUMURA, T.; HIRANO, S. (1988) Field surveillance of equine herpesvirus type 1 infection in racehorses by agar gel immunodiffusion test. Bull. Equine Res. Inst. 25: 15-19.
73. SULLIVAN, J.J.; TURNER, P.C.; SELF, L.C.; GUTTERIDGE, H.B. & BARTLETT, D.E. (1975) Survey of reproductive efficiency in the Quarter-horse and Thoroughbred. J. Reprod. Fert. Suppl. 23: 315-318.

74. SWERCZEK, T.W. (1986) Equine fetal diseases. In (D.A. MORROW, Editor) Current Therapy in Theriogenology. WB Saunders CO, Philadelphia, 2ª Edição, pp. 699-704.
75. SWERCZEK, T.W. & ROBERTS, A.W. (1990) Equine viral arteritis abortion. Laboratory Diagnosis of Livestock Abortion. 3rd Ed. Iowa State University Press, Ames, pp. 221-223.
76. SWERCZEK, T.W. (1991a) Recognizing the common causes of equine abortion: An overview. Veterinary Medicine: 1019-1024.
77. SWERCZEK, T.W. (1991b) Noninfectious causes of abortion in the mare. Veterinary Medicine: 1025-1029.
78. SWERCZEK, T.W. (1991c) The most common viral causes of equine abortion. Veterinary Medicine: 1205-1208.
79. SWERCZEK, T.W. (1991d) Identifying the bacterial causes of abortion in mares. Veterinary Medicine: 1210-1216.
- 80.. TIMONEY, P.J. & McCOLLUM, W.H. (1985) The epidemiology of equine viral arteritis. Proc. Am. Assoc. Equine Practnr: 545-551.
81. VAN NIEKERK, C.H. (1965) Early embryonic resorption in mares. A preliminary report. J. S. Afr. vet. med. Ass. **36**: 61.
82. VAN NIEKERK, C.H. & MORGENTHAL, J.C. (1982) Fetal loss and the effect os stress on plasma progestagen levels in pregnant Thoroughbred mares. J. Reprod. Fert. Suppl. **32**: 453- 457.
83. VARGAS, A.P.C. (1989) Herpesvírus eqüino tipo 1: prevalência em eqüinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.
84. WHITWELL, K.E. (1975) Morphological and pathological observations on the umbilical cord. J. Reprod. Fert. Suppl. **23**: 599.
85. WHITWELL, K.E. (1980) Investigations into fetal and neonatal losses in the horse. Vet. Clin. North. Am., Lrg. Animl. Pract. **2**: 313-329.
86. WILLIAMS, R.D.; MORTER, R.L.; FREEMAN, M.J. & LAVIGNETE, A.M. (1971) Experimental chronic uveitis: ophtalmic signs following equine leptospirosis. Invest. Ophthalmol. **10**: 948-954.
87. WITHERSPOON, D.M. (1984) Vaccination against equine herpesvirus 1 and equine influenza infection. Vet. Rec. **115** (14): 363.